

ISSN 1345-5974
2016-NO.61

平成 28 年度・第 61 号

研 究 報 告

Report of
Miyazaki Prefectural Industrial Technology Center &
Miyazaki Prefectural Food R&D Center
FY 2016

 MITC 宮崎県工業技術センター
 MFDC 宮崎県食品開発センター

目 次

工業技術センター

新燃岳噴火直後に採取した火山灰の性状	清水 正高・山本 建次 濱山 真吾・久木崎 雅人 竹田 智和	1
焼酎粕を培地とした麹菌培養によるセラミド生産	小玉 誠・森谷 亜希 小境 敏揮・河野 邦晃 岩井 謙一・高瀬 良和 松本 公彦・久木崎 雅人	7
LC-MS/MS による麹菌産生セラミドの構造解析	小玉 誠・森谷 亜希 松本 公彦・久木崎 雅人	13
粉体試料の粒度が蛍光 X 線分析結果に及ぼす影響	山本 建次・濱山 真吾	21
油中ナノ粒子分散体の製造方法の開発	濱山 真吾・山本 建次 清水 正高	25
LED 光照射がシイタケの形質等に及ぼす影響	山下 一男・新田 剛 溝添 暁子・高橋 克嘉 鳥原 亮	29
独立電源システムの信頼性向上に関する研究	鳥原 亮・山下 一男	33
褥瘡等を早期発見するための生体情報検出に関する研究	布施 泰史・小田 誠 早水 昭二	37

食品開発センター

キンカン新品種「宮崎夢丸」のピューレ加工に関する研究	三輪 華織・福山 明子 山田 和史	41
県内で生産されているユズ果汁の成分分析	高橋 克嘉・福山 明子 柚木崎 千鶴子・山田 和史	45
搾汁方法の違いによる宮崎県産日向夏果汁の成分変化	高橋 克嘉・福山 明子 柚木崎 千鶴子・山田 和史	51
抽出温度によるへベス精油組成の変化	高橋 克嘉・永山 志穂 山田 和史	57
MALDI-TOF MS を用いた県オリジナルの微生物データベースの構築	喜田 珠光・高山 清子 水谷 政美・山本 英樹 祝園 秀樹・藤田 依里	61
キクイモを原料とした焼酎の製造	高山 清子・山本 英樹 祝園 秀樹・藤田 依里 喜田 珠光・大浦 晋一 水谷 政美	65
新しい加工用米(み系 358)を用いた芋焼酎試験醸造と実用化 (第 2 報)	山本 英樹・水谷 政美 祝園 秀樹・高山 清子 藤田 依里・喜田 珠光	69

Contents

Miyazaki Prefectural Industrial Technology Center

Properties of the Volcanic Ashes Collected Just after Falling from the Shin-Moe Mountain Masataka SHIMIZU, Kenji YAMAMOTO, Shingo HAMAYAMA, Masato KUKIZAKI and Tomokazu TAKEDA	1
Study on ceramide production by culturing <i>Aspergillus kawachii</i> with sweetpotato <i>shochu</i> distillery by-products Makoto KODAMA, Aki MORITANI, Toshiki KOSAKAI, Kuniaki KAWANO, Ken-ichi IWAI, Yoshikazu TAKASE, Kimihiro MATSUMOTO and Masato KUKIZAKI	7
Structural determination of ceramides from <i>Aspergillus kawachii</i> by LC-MS/MS Makoto KODAMA, Aki MORITANI, Kimihiro MATSUMOTO and Masato KUKIZAKI	13
Effect of Particle Size on Fluorescent X-ray Analysis Results of Powder Sample Kenji YAMAMOTO and Shingo HAMAYAMA	21
Development of Method of Producing Nanoparticle-in-Oil Dispersion Shingo HAMAYAMA, Kenji YAMAMOTO and Masataka SHIMIZU	25
Effect of LED Lighting on Characteristics of <i>Lentinula edodes</i> Kazuo YAMASHITA, Takeshi NITTA, Akiko MIZOZOE, Katsuyoshi TAKAHASHI and Ryo TORIHARA	29
Study on Reliability Improvement of the Independent Power Supply System Ryo TORIHARA and Kazuo YAMASHITA	33
Study on Detection Method of Biological Information for discovering Pressure Ulcers at Early Stage Yasufumi FUSE, Makoto ODA and Shoji HAYAMIZU	37

Miyazaki Prefectural Food Reserch and Development Center

Development of Method for Puree of Kumquat ‘Miyazaki Yumemaru’ Kaori MIWA, Akiko FUKUYAMA and Kazufumi YAMADA	41
Component Analysis of Yuzu Juice Produced in Miyazaki Katsuyoshi TAKAHASHI, Akiko FUKUYAMA, Chizuko YUKIZAKI and Kazuhumi YAMADA	45
Ingredient Change of the Juice of Citrus Tamurana Grown in Miyazaki by the Difference in Juice Method Katsuyoshi TAKAHASHI, Akiko FUKUYAMA, Chizuko YUKIZAKI and Kazuhumi YAMADA	51
Changes in Hebesu Essential Oil Composition Depending on Extraction Temperature Katsuyoshi TAKAHASHI, Shiho NAGAYAMA and Kazuhumi YAMADA	57
Constraction of Miyazaki prefecture original microbial database using MALDI-TOF MS Tamami KIDA, Kiyoko TAKAYAMA, Masami MIZUTANI, Hideki YAMAMOTO, Hideki IWAIZONO and Eri FUJITA	61
Producing <i>Shochu</i> made from “ <i>Kikuimo</i> ” (<i>Helianthus tuberosus</i>) as raw materials. Kiyoko TAKAYAMA, Hideki YAMAMOTO, Hideki IWAIZONO, Eri FUJITA, Tamami KIDA, Shinichi OURA and Masami MIZUTANI	65
The Examination Brewing and Practical Use of Sweet Potato <i>Shochu</i> Using New Processing Rice ”Mikei 358” (Part2) Hideki YAMAMOTO, Masami MIZUTANI, Hideki IWAIZONO, Kiyoko TAKAYAMA, Eri FUJITA and Tamami KIDA	69

新燃岳噴火直後に採取した火山灰の性状

清水正高*1・山本建次*2・濱山真吾*2・久木崎雅人*3・竹田智和*4

Properties of the Volcanic Ashes Collected Just after Falling from the Shin-Moe Mountain

Masataka SHIMIZU, Kenji YAMAMOTO, Shingo HAMAYAMA, Masato KUKIZAKI
and Tomokazu TAKEDA

霧島連山・新燃岳は、2011年に再噴火を起こし、その後、現在まで火山活動を継続している。特に、同年1月26日～30日の噴火では、噴出した大量の火山灰が宮崎県から鹿児島県にかけて降下し、大きな社会的問題となった。

本県工業技術センターでは、多くの企業が所有する各種精密機器やクリーン環境の製造プロセス、また、食品加工産業などに対する悪影響などを想定し、例えば、コンタミネーション対策に役立てるため、火山灰の性状を明らかにすることにした。本報では、コンタミネーションの主因になる微細な火山灰に着目し、降雨によって表面付着物が除去される前の降下直後の火山灰を採取して分析に供した。その結果、火山灰の構成成分は、その粒径にかかわらず、すなわち、降下距離によらずほぼ同一であること、また、表面には、可溶性の陰イオンが量的に $\text{SO}_4^{2-} > \text{Cl}^- > \text{F}^-$ の順で付着していることなどが明らかになった。

なお、火山学的なアプローチは専門機関の報告に譲ったが、資源利用の可能性を考慮し、桜島火山灰及び始良カルデラを起源とするシラスとの成分比較を行った。

キーワード：新燃岳，火山灰，桜島，始良カルデラ，シラス

1 はじめに

2008年から活動を続けていた霧島連山・新燃岳が、2011年1月26日～27日に大きな噴火^{1～4)}を起こした。このことが我々の記憶に深く残っているのは、県内でほぼ300年ぶりに起こった本格的な噴火であったこともあるが、その噴出物量が多かったことによる。火山灰は、東向きの風に乗って、日南市や宮崎市を覆って太平洋沖にまで達した。

本県工業技術センターでは直ちに火山灰を採取し、性状を調べることにした。これは、1) 仮に火山灰が各種精密機器やクリーン環境の製造プロセス、また、食品加工業界プロセスなどへ及ぼす悪影響に備えて、その原因を調べるための基礎デ

ータにするため、2) 大量の火山灰を活用して何らかの製品を作る場合の参考データを得るため、さらに、3) 同じような火山噴出物である桜島火山灰、あるいは、過去に起こった超巨大噴火(破局的噴火)火砕流の名残であるシラスと比較するためであった。

クリーン度が要求されるプロセスにおいて、降灰は、異物混入の危険因子である。上記目的の1)と2)では、火山灰の粒径、形状、成分などが調査項目になる。一方、3)では、桜島が始良カルデラ(現、錦江湾)の縁に位置し、1万年に1回起こると言われている超巨大噴火のシグナルを発していることと同様に、新燃岳も霧島連山地下深くに存在する巨大マグマだまりからのシグナルを捉える一助になると考えた。

火山灰の性状を理解する上で、噴出源からの距離は重要なファクターである。距離が近いほど噴

*1 材料開発部 (現 副所長・資源環境部)
*2 材料開発部
*3 資源環境部 (現 宮崎県機械技術センター)
*4 資源環境部 (現 宮崎県東京事務所)

出物（火山灰や礫）は大きく、遠いほど小さくなる。特に、火山灰の成分や微構造などが粒径に依存し、距離の影響を受ける可能性が予想された。そこで本報では、採取した火山灰を距離別に調べ、解析を行った。

一方、火山学的なアプローチは専門機関の報告^{5~7)}に譲り、火山灰の資源利用も想定し、桜島火山灰⁸⁾と始良カルデラを起源とするシラス^{9~11)}との成分比較なども行った。



図1 火山灰採取場所

2 方法

2-1 火山灰の採取

噴火降灰後、一兩日以内に火山灰を採取した。これは、火山灰の可溶性成分が雨によって消失しないよう、また、土壌などのコンタミネーションが起こらないように配慮したためである。採取は、清浄なコンクリート、板、瓦上に降り積もったものを履き取って集めた。

採取場所は、新燃岳に近い順に、①都城市御池町、②高原町「ほほえみ館」、③都城市夏尾町、④都城市下川東、⑤都城市上川東「都城保健所」、⑥都城市梅北町、

⑦宮崎市佐土原町「工業技術センター」(図1, ①~⑦を图中に示す)の7箇所である。

2-2 火山灰の分析

形状の観察は、FE-SEM ((株)日立ハイテクノロジーズ, S-4800) により行った。成分分析に

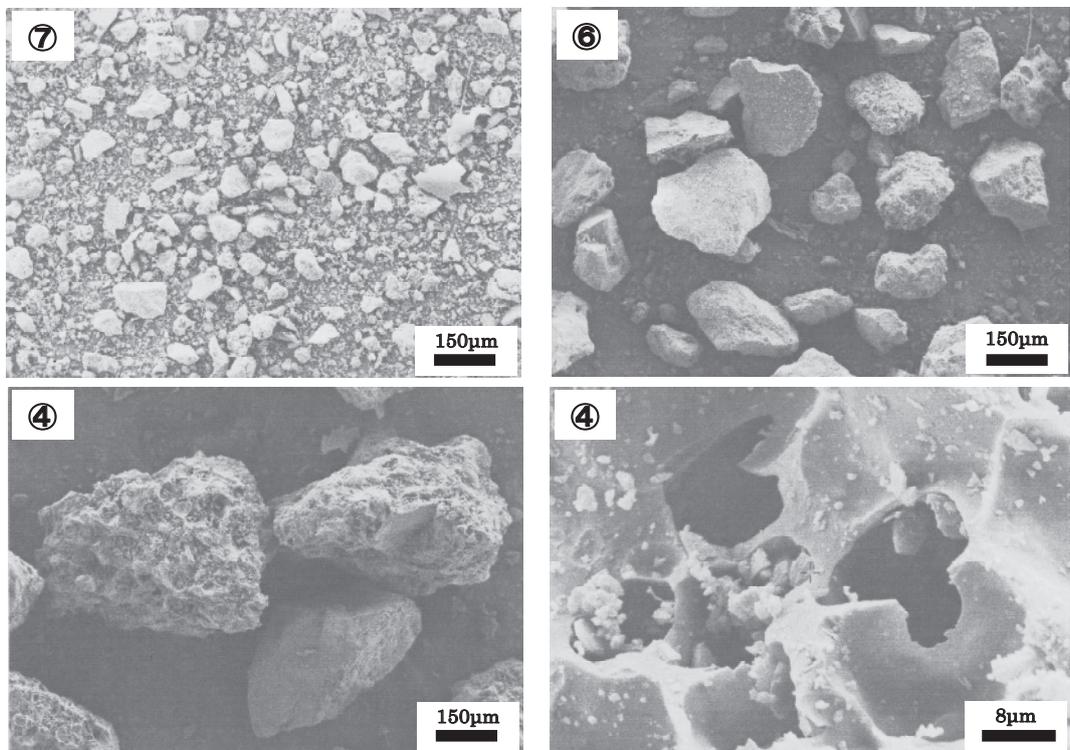


図2 異なる場所で採取した火山灰（未洗浄）のSEM写真例

④都城市下川東の火山灰×100 と×2000, ⑥都城市梅北町の火山灰×100, ⑦宮崎市佐土原町工業技術センターの火山灰×100

は蛍光 X 線分析装置 ((株)リガク, ZSX100e),
あるいは, EDX (上記 FE-SEM 付属, APEX2)
を用いた。

2-3 可溶性成分の分析

火山灰 20g を 100ml の蒸留水に分散させ, 30min
攪拌した。その上澄み液の酸性度を pH メータで,
また, 0.2 μ m メンブレンフィルターのろ液をイオ
ンクロマトグラフ (日本ダイオネクス(株)) によ
り陰イオン分析した。

3 結果

3-1 新燃岳からの距離と火山灰粒径, 微構造 の関係

新燃岳に
近い①御池
町の降下物
には火山礫
が多く含ま
れていた。③
夏尾町から
は順次火山
灰の粒径が
小さくなり,
⑦工業技術
センター火
山灰はほと
んど 100 μ m
以下であっ
た。一方, こ
うした新燃
岳→都城市
→宮崎市や
新燃岳→都
城市→日南
市の降灰ル
ートから外
れた②高原
町「ほほえみ
館」の火山灰
は, 本流から
離れた方向
に拡散降下

したため, 比較的粒径が小さかった。

図 2 に代表的な地点で採取した火山灰の電子
顕微鏡 SEM 写真を示した。新燃岳から離れるに
従って火山灰粒径が小さくなっていった。また,
粒子表面には, ガス成分が抜けたことを示唆す
る発泡痕が多数見られた。

図 3 には, ④都城市下川東に降下した火山灰
(未洗浄) の SEM 写真を 6 枚掲載した。火山灰
表面は非常に微細なサブミクロン粒子によって
覆われていた。次に, 同じ火山灰を蒸留水で洗
浄した後の SEM 写真 6 枚を図 4 に示す。サブミ
クロン粒子は消失し, 明瞭な発泡痕が現れた。

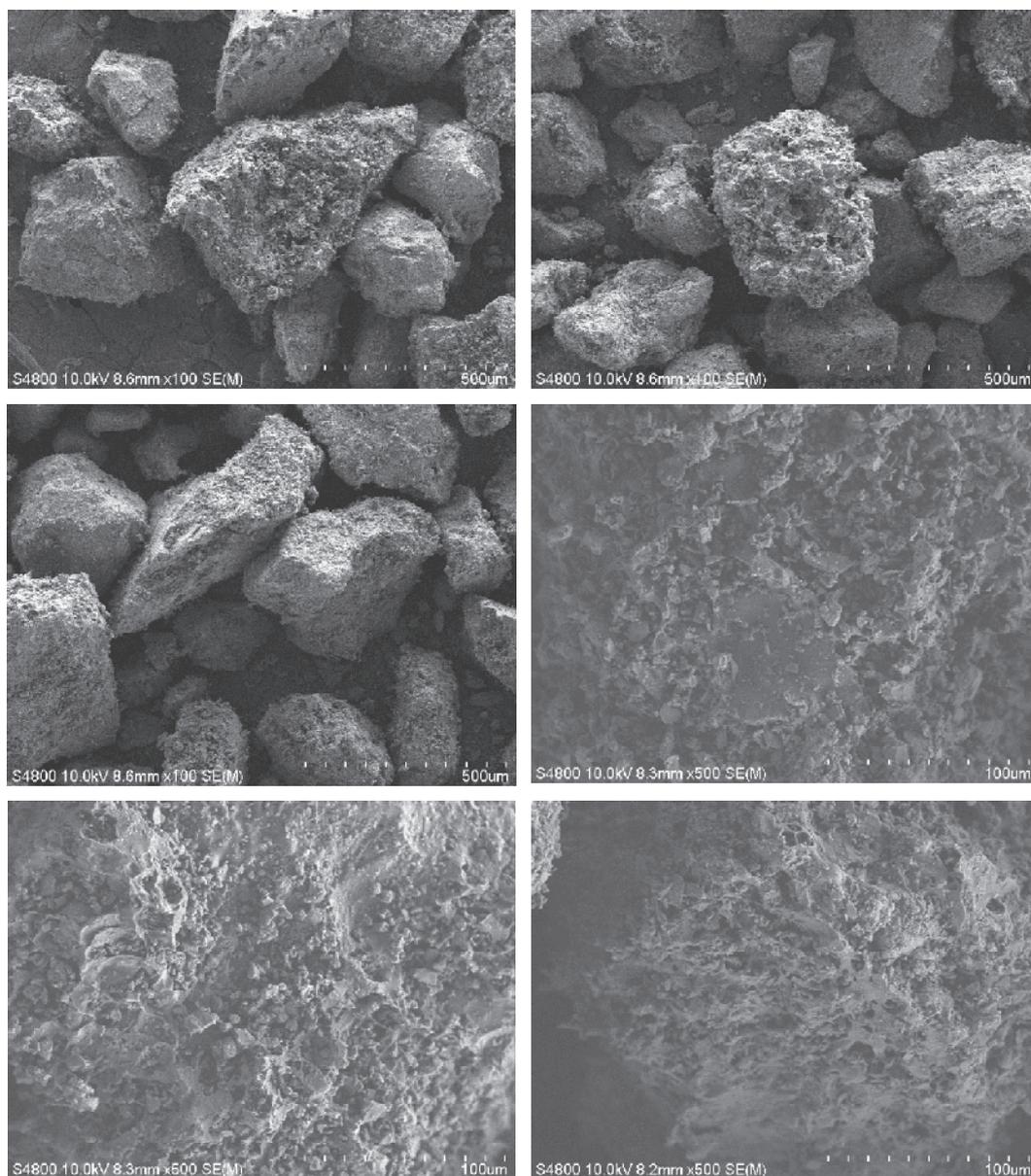


図 3 都城市下川東へ降下した火山灰の SEM 写真 (未洗浄)

サブミクロン粒子は水によって洗い流されやすいと推測される。後述するように、洗浄後の火山灰本体の化学組成は、粒径によらずほぼ均一である。ところが、未洗浄火山灰のEDX分析からは、サブミクロン粒子の組成変動が大きく、個々の粒子によって成分が異なるように判断された。こうした現象については不明な点が多く、今後の研究に解析を譲る。

3-2 火山灰の成分分析結果

蛍光X線分析装置により測定した①～⑦火山灰の成分比（酸化物換算）を表1に示す。数値に多少の変動はあるが、概ね同じ化学組成であった。図3と図4に示す洗浄前後、あるいは、①～⑦を150 μ mで篩い分けた大小火山灰粒子の間でも成分比はほぼ同じであった。これらの事実は、火山灰の構成成分が粒径に依存しないことを示している。

3-3 桜島火山灰、シラスとの差異

新燃岳火山灰は、加久藤シラスや桜島火山灰と化学組成が異なるため、成分分析によって新燃岳

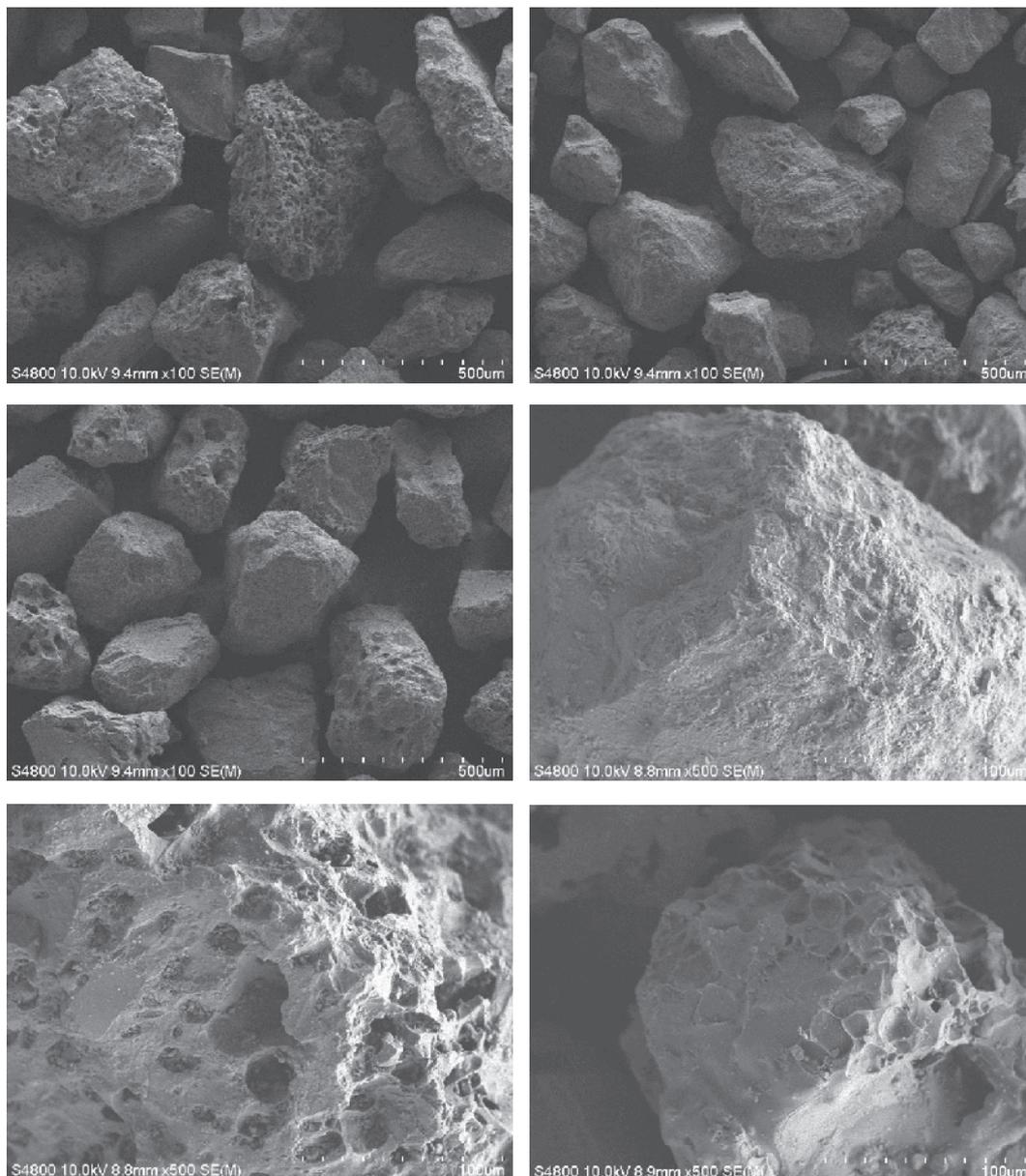


図4 都城市下川東へ降下した火山灰のSEM写真（洗浄後）

火山灰の特定は可能である（表2）。一方、新燃岳火山灰は、300年前の噴火で採取された火山灰とほぼ同じ成分比⁷⁾であり、輝石安山岩マグマ由来の噴出物であった。

3-4 火山灰に存在する可溶性陰イオン

可溶性陰イオンは、多い順に $SO_4^{2-} > Cl > F$ であり、pHは4.5～5.8の酸性であった。また、距離が近いほど高い濃度を示した。この水溶出試験結果を表3に示す。

一旦洗浄すると、再度洗浄しても可溶性陰イオンの溶出はなく、これらは火山灰の表面にのみ付着しているか、サブミクロン粒子とともに存在していると推測された。

表 1 蛍光 X 線分析装置による火山灰の成分分析【wt%】

成分	① 都城市 御池町	② 高原町 ほほえみ館	③ 都城市 夏尾町	④ 都城市 下川東	⑤ 都城市 上川東	⑥ 都城市 梅北町	⑦ 宮崎市 佐土原町 工業技術センター
SiO ₂	55.0	55.7	54.5	54.0	53.4	53.9	54.8
Al ₂ O ₃	19.0	18.8	19.2	19.4	19.5	19.8	18.5
Fe ₂ O ₃ FeO	8.3	7.5	8.2	8.3	8.6	8.1	7.3
CaO	7.9	7.1	8.1	8.2	8.2	8.1	6.3
Na ₂ O	3.2	2.7	3.0	3.0	3.0	3.0	2.2
K ₂ O	1.7	1.8	1.7	1.6	1.5	1.5	2.0
MgO	3.7	3.6	4.0	4.2	4.3	3.8	2.6
SO ₃	0.1	1.8	0.2	0.2	0.3	0.6	5.0

4 まとめ

輝石安山岩マグマ由来の噴出物である新燃岳火山灰は、当然ではあるが、噴出源から降下位置が遠くなるに従って粒径が小さくなった。しかし、予想に反して化学組成や形状は粒径にほとんど依存しなかった。火

山灰表面はサブミクロン微粒子によって覆われており、これは雨水で簡単に洗い流される。おそらく可溶性陰イオンも流出すると考えられる。

化学組成などの解析からは、新燃岳火山灰が、加久藤シラスや桜島火山灰よりも高い硬度と大きな密度を有していると推測された。

5 参考文献

- 1) 眞崎浩成, 中村雅和, 祝園秀樹, 岩切淳, 新燃岳噴火に伴う大気汚染物質の拡散状況の解析, 宮崎県衛生環境研究所研究年報, No.22, 108-112 (2011)
- 2) 立山諒, 中村公生, 杉本恵, 赤崎いずみ, 岩佐美紀子, 河野通宏, 森下敏朗, 新燃岳噴火に伴う火山灰の化学的性質, 宮崎県衛生環境研究所研究年報, No.23, 107-111 (2012)
- 3) 中野俊, 及川輝樹, 石塚吉浩, 篠原宏志, 森田雅明, 霧島山新燃岳 2017 年 10 月の噴火, GSI 地

表 2 シラス, 桜島火山灰との比較【wt%】

成分	加久藤シラス	桜島火山灰	新燃岳火山灰
SiO ₂	65~73	60~61	54~56
Al ₂ O ₃	12~18	16~17	18~19
Fe ₂ O ₃ FeO	1~3	6~7	7~8
CaO	2~4	6~7	6~8
Na ₂ O	3~4	2~4	2~3
K ₂ O	2~3	1~2	~2
MgO	1>	2~4	~3
Ig.Loss	2~5	1>	—
火山ガラスの割合	75~80 wt%	約 70 wt%	約 80 wt% 輝石安山岩マグマ

質ニュース, Vol.6, No.11, 351-354 (2017)

- 4) 今村崇, 新燃岳火山灰の粒子の組成と形態, 熊本県立大学環境共生学部環境資源学科 2011 年度卒業研究要旨
- 5) 舟崎淳, 霧島山の火山活動と気象庁の火山情報について, 調査月報 11 月号, 2-9(2015)みやぎん

経済研究所

- 6) 田島靖久, 林信太郎, 安田敦, 伊藤英之, テフラ層序による霧島火山新燃岳の噴火活動史, 第四紀研究 The Quaternary Research, 52(4), 151-171 (2013)
- 7) 岩橋純子, 久松文男, 石川弘美, 建設省国土地理院火山土地条件調査報告書(霧島山地区), 平成 11 年 3 月
- 8) 水谷仁編;活発化する日本の火山 桜島の噴火, Newton 別冊, 18-27 (2014), ニュートンプレス
- 9) 島田欣二, 福重安雄, シラス中の火山ガラスの性質, 窯業協会誌, 83(12), 565-570 (1975)
- 10) 大庭昇, 山下広幸, 山本温彦, 二次シラスの鉱物組成および化学組成, 岩石鉱物鉱床学会誌, 67(3), 84-89 (1972)
- 11) 横山勝三, シラス学(九州南部の巨大火砕流堆積物), (2003)古今書院

表 3 火山灰の水溶出試験結果

項目	②高原町 「ほほえみ館」	⑤都城市上川東 「都城保健所」
pH	4.5	5.8
Cl ⁻	81 ppm	27 ppm
SO ₄ ²⁻	450 ppm	140 ppm
F ⁻	5.0 ppm	9.2 ppm

条件：火山灰 20g に対して蒸留水 100g

【謝辞】 火山噴出物の採取では多くの方のご協力をいただいた。ここに記して謝意を表す。

焼酎粕を培地とした麴菌培養によるセラミド生産

小玉 誠*¹・森谷 亜希*¹・小境 敏揮*²・河野 邦晃*²・岩井 謙一*²
高瀬 良和*²・松本 公彦*³・久木崎 雅人*⁴

Study on ceramide production by culturing *Aspergillus kawachii*
with sweetpotato *shochu* distillery by-products

Makoto KODAMA, Aki MORITANI, Toshiki KOSAKAI, Kuniaki KAWANO,
Ken-ichi IWAI, Yoshikazu TAKASE, Kimihiko MATSUMOTO and Masato KUKIZAKI

宮崎県内で約30万t/年と大量に発生する焼酎粕を麴菌培養基質として用いることにより、化粧品や機能性食品の原料として大きな需要がある「セラミド」を生産できる技術を開発した。焼酎粕清澄液を用いることにより、合成培地で麴菌を培養するよりも約1.6倍のセラミドを生産し、さらに、栄養源を添加することで2.3倍に増大することができた。また、焼酎粕中にセラミド生産を促進する因子が含まれていることを示唆する結果が得られた。

キーワード：焼酎粕，麴菌，液体培養，セラミド

1 はじめに

宮崎県の本格焼酎出荷量は14.2万kl/年（2016酒造年度）であり、3年連続の日本一を達成している。一方、焼酎製造時には蒸留残渣として焼酎粕が発生し、県内の発生量は約30万t/年にも及ぶ。各酒造メーカーは飼肥料やメタン発酵によるガス化など、様々な手法により焼酎粕の活用を図っているが、より高付加価値な用途開発が望まれている。

セラミドは、スフィンゴイド塩基のアミノ基がアシル化された化合物の総称であり、アトピー性皮膚炎や乾燥肌に著効¹⁾があることから、化粧品や機能性食品の原料として大きな需要が期待されている。また、がんの予防効果に関する報告²⁾もある。

過去にはスフィンゴ脂質は牛脳から採取されていたが、狂牛病の発生により動物由来でなく植物や微生物由来の需要が高まっている。現在、スフィンゴ脂質は主にコンニャクなどから生産されているが、安定かつ安価な供給源が求められている。

2011年、平田らが、焼酎粕に多量のスフィンゴ脂質が含まれていることを報告した³⁾。焼酎粕中のスフィンゴ脂質は、固液分離後、固形部から溶剤抽出により回収する手法⁴⁻⁵⁾が開発されているが、これらの手法では焼酎粕の約9割以上を占める液部が残存する。一方、焼酎粕液部には、醸造過程では分解されなかった糖質やタンパク質のほか、酵母によって生産させた有機酸やその他の代謝産物等、豊富な有機源を保有している。

このような中、我々は、焼酎粕液部を培地として麴菌を培養することによりセラミドを製造する技術を検討した。ここでは、YPD培地で培養するよりも多くのセラミドを生産できることを明らかにした。さらに、麴菌産生セラミドの構造を解析したところ、脂肪酸基に水酸基を1もしくは2個保有する構造の含有比率が高いことがわかった⁶⁾。

今回は、焼酎粕液部またはYPD培地を用いて麴菌を培養し、麴菌が生産するスフィンゴ脂質の生産量について分子種ごとに比較した結果、焼酎粕液部による麴菌培養の優位性が明らかとなったので報告する。

*1 資源環境部

*2 霧島酒造株式会社

*3 資源環境部（現 宮崎県総務部消防保安課）

*4 資源環境部（現 宮崎県機械技術センター）

2 実験方法

2-1 焼酎粕による麹菌の培養

焼酎粕は霧島酒造(株)より入手した。焼酎粕を3000 Gで遠心分離した液部を孔径1 μmのフィルタでろ過することにより焼酎粕清澄液を調製した。焼酎粕清澄液及びYPD培地(1% yeast extract, 2% Bacto-tryptone, 2% glucose)はそれぞれ、加圧滅菌することにより培地とした。それぞれの成分組成を表1に示す。

培養は、白麹から単離した麹菌株 (*Aspergillus luchuensis mut. kawachii*) を接種し、バッフル付三角フラスコを用いて、30°Cで振とう培養した。

培養された麹菌体は、培養液を1 μmフィルタでろ過することにより分離し、真空凍結乾燥した重量から、総菌体量を求めた。

2-2 培養液の分析

麹菌の増殖及びセラミドの生産と培養液中の成分との関連性を検証するために、麹菌培養時におけるYPD培地及び焼酎粕清澄液中の各種成分の分析を行った。

有機酸、遊離アミノ酸、遊離糖は、それぞれ、高速液体クロマトグラフ ((株)島津製作所、有機酸分

析システム)を用いて測定し、高速アミノ酸分析計 ((株)日立製作所、L-8900) 及びイオンクロマトグラフ (日本ダイオネクス(株)、ICS-500) を用いて測定した。また、タンパク質量はケルダール法により、全糖量はフェノール硫酸法により測定した。

2-3 セラミド測定

麹菌乾燥物を、1:1 (v/v) のクロロホルム-メタノール (CM混液) で抽出し、0.8M KOH/メタノールと混合した。さらにクロロホルムと水を加え、有機層を回収した後、減圧濃縮してCM混液で定容したものを表2の条件で分析した。

麹菌が産生するセラミドは表3のとおりと推定される⁷⁾。次にセラミドをセラミド分子種の特徴ごとに分類し、グルコースが結合したグルコシルセラミド (Group A) と遊離型のセラミド (Group B, C, D, E) に分け、標準物質として、たもぎ茸由来 Glucosylceramide mix (長良サイエンス(株)) と N-lignoceroyl-phytosphingosine (Avanti Polar Lipids, Inc.) を用いて定量し、合計値を総セラミド量とした。

表1 培養液の成分組成

	(mg/ml)	
	焼酎粕清澄液	YPD培地
全糖	6.7	19
グルコース	0.66	22
ガラクトース	0.33	
タンパク質	6.6	22.9
遊離アミノ酸	3.0	9.2
有機酸	4.9	0.1
クエン酸	2.7	

表2 LC-MS/MSの分析条件

HPLC		Prominence (島津製作所製)	
カラム	kinetex 2.6uC18 100A 2.1 mm × 75 mm		
溶離液 (グラジエント)	A:water/MeOH(4/1)in 0.01%AcNH ₄ B:THF/MeOH(4/1)in 0.01%AcNH ₄ 流速 0.3 mL/min		
オープン	40°C		
質量分析計		3200Qtrap (ABSciex製)	
イオン化モード	ESI (+)	測定範囲	m/z 500-800
印加電圧	4500 V	DP電圧	30 V
霧化ガス流量	70 L/min	ガス温度	300 °C
乾燥ガス流量	20 L/min		

表3 麹菌産生セラミドの推定構造 (括弧内は m/z 値)

Group	推定構造
A	Glc-d18:2m-C18h:1(754), Glc-d18:2m-C18h:0(756)
B	d18m:2-C18h:1(592), d18m:2-C18h:0(594)
C	t18:0-C24h ₂ :0(700), t19:0-C24h ₂ :0(714), t20:0-C24h ₂ :0(728), t20:0-C25h ₂ :0(742), t20:0-C26h ₂ :0(756)
D	t18:0-C23h:0(670), t18:0-C24h:0(684), t19:0-C24h:0(698), t20:0-C24h:0(712), t20:0-C25h:0(726), t20:0-C26h:0(740)
E	t18:0-C24:0(668), t19:0-C24:0(682), t20:0-C24:0(696), t20:0-C25:0(710)

3 結果および考察

3-1 麹菌培養によるセラミド生産

培養日数ごとの総菌体量の変化を図1に示す。YPD培地、焼酎粕清澄液共に、培養10日目までに約9.5 mg/mlとなったが、その培養経過はYPD培地の場合は7日目まで徐々に増加し、焼酎粕清澄液は4日目まで急速に増殖しており、その後一定となった。

セラミド量の変化を図2に示す。いずれの培養液においても菌体量増加の停止以降も増加していた。焼酎粕清澄液の場合は26 µg/mlとYPD培地の16 µg/mlの約1.6倍の生産量となった。分子種ごとに見ると、グルコシルセラミド量 (GC) は大きな違いはないが、遊離型セラミド量 (Cer) は焼酎粕清澄液の方が約4倍生産しており、総セラミドの65%を占めた。焼酎粕清澄液を培地とすることでセラミド生産量が向上することが明らかとなった。

3-2 糖の資化

全糖及び遊離糖濃度の変化を図3に示す。YPD培地の糖はそのほとんどをグルコース (Glc) が占めており、約20 mg/mlのグルコースは、培養4日目までに

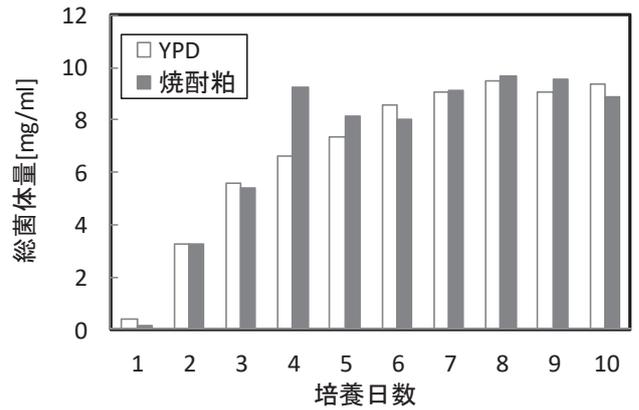


図1 麹菌体量の変化

全て消費され、全糖量も約1 mg/mlまで減少した。一方、焼酎粕清澄液に含まれる遊離糖は、ガラクトース (Gal) 及びグルコースがそれぞれ0.66 mg/ml, 0.33 mg/mlとYPD培地の約1/20量であり、2日後には全て消化されていた。

全糖量は6.7 mg/mlから6日目に4.1 mg/mlまで減少したものの、その後ほぼ一定であり、糖の消費量はYPD培地による培養と比較して著しく少なかった。焼酎粕清澄液中には麹菌が資化できない多糖類が多く含まれていることが示唆された。

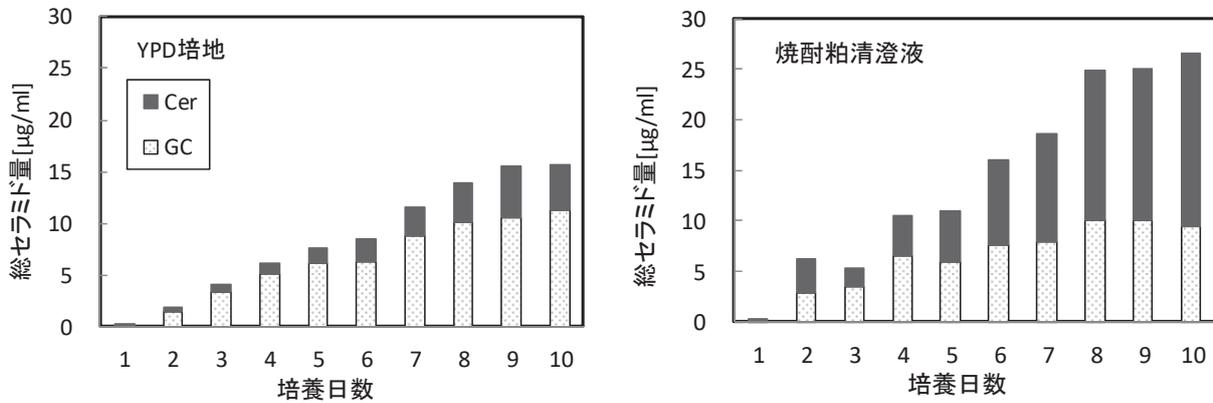


図2 各培養液における麹菌産生セラミド量の変化

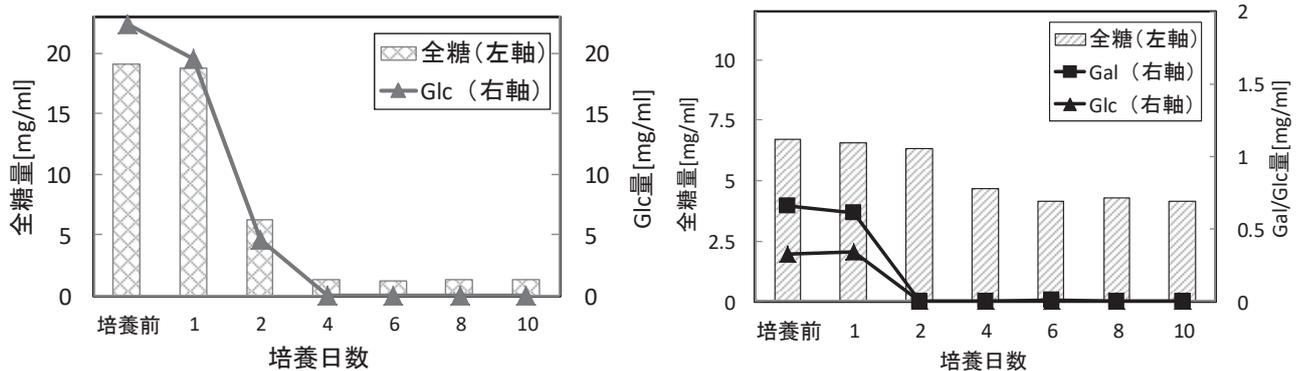


図3 各培養液中の糖の変化

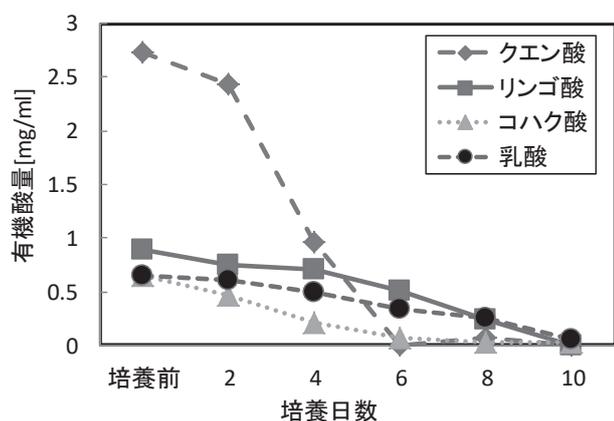


図4 焼酎粕清澄液の有機酸量の変化

3-3 有機酸の資化

有機酸は焼酎粕に含まれる主要成分の1つである。焼酎粕清澄液には、クエン酸、リンゴ酸、コハク酸、乳酸の合計が4.9 mg/mlであるのに対し、YPD培地は0.1 mg/mlとほとんど含まれていなかった。焼酎粕清澄液の有機酸ごとの濃度変化を図4に示す。培養前にはクエン酸は2.7 mg/mlと最も多く含まれていたが、最も早く消費が進行し、培養5日目にはほぼ消費された。クエン酸以外の有機酸も徐々に減少し、9日目までにはほぼ消費された。このことから、有機酸も炭素源として麹菌の増殖に活用されていることがわかった。

しかしながら、焼酎粕清澄液で培養した場合の糖と有機酸の消費量の合計は、YPD培地での糖消費量と比較して少なかった。

3-4 窒素源の資化

培養液中の窒素含有量の変化を図5に示す。YPD培地の窒素量は3.6 mg/mlであり、培養6日目に3.2 mg/mlまで減少したが、それ以降は一定であった。焼酎粕清澄液の窒素量は1.0 mg/mlであり、培養6日目に0.6 mg/mlまで減少し、それ以降は増加に転じた。培養後期は培養液中のアンモニア濃度が高まっていることを確認していることから、一度菌体内に取り込まれた窒素分が代謝や菌体の死滅等により再び培養液中に溶出されたために増加したものと考えられる。溶液中の窒素量の減少量はいずれも約0.4 mg/mlとほぼ同一であり、約9.5 mg/mlの麹菌体を増殖させるために必要な窒素源の量であることが示唆された。

3-5 セラミド生産量増加に関する因子の検討

焼酎粕清澄液はYPD培地よりも炭素源・窒素源共に少ない組成でありながら、YPD培地と同等程度に

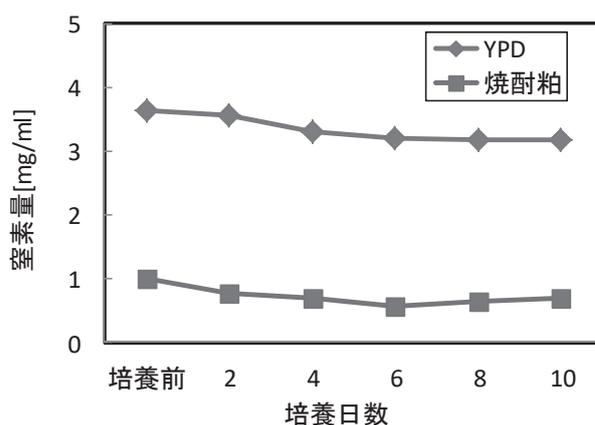


図5 各培養液中の窒素量の変化

麹菌体を増殖させ、さらに約1.6倍のセラミドを生産していた。

真核生物は栄養環境が悪化した場合にオートファジーを起こし、その際スフィンゴ脂質が必要とされることが報告されている⁸⁾。焼酎粕清澄液を用いた麹菌培養によるセラミド生産増加について、炭素源・窒素源が少ない環境下において麹菌体が飢餓状態に陥ることが要因の1つと想定された。このことを検証するために、YPD培地の組成成分を焼酎粕清澄液に添加し（以下、YPD添加焼酎粕）、十分な栄養源がある環境下として麹菌を10日間培養した。総セラミド量を図6に示す。YPD添加焼酎粕で培養した麹菌体重量は、12 mg/mlと焼酎粕清澄液と比較して3割程度増加した。また、セラミド量はグルコシルセラミド、セラミド共に4割程度増加し、37 μg/mlであった。

この結果から、焼酎粕清澄液による麹菌培養によってセラミド生産量が増加する要因は、焼酎粕の低栄養源によるストレスが要因ではなく、焼酎粕中にセラミド産生を促進する因子が含まれていることが

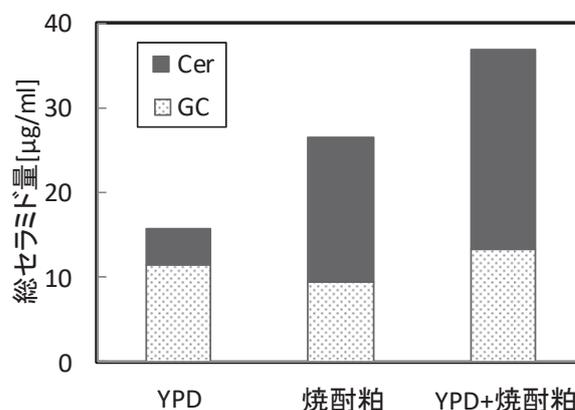


図6 各培養液におけるセラミド生産量

示唆された。

焼酎粕に多量に含まれる成分として有機酸が挙げられる。YPD培地に焼酎粕清澄液と当量の有機酸を添加し麹菌培養を行ったところ、菌体重量及びセラミド生産量ともに無添加時と大きな変化はなかった。このことから有機酸がセラミド産生促進因子であることは否定された。

4 まとめ

焼酎粕清澄液を培地として麹菌を培養したところ、炭素源・窒素源が少ない環境において、合成培地と同等程度に菌体が増殖した上に、総量として約1.6倍となる26 µg/mlのセラミドを産生した。特に、遊離型セラミドは17 µg/mlと約4倍の生産量となった。

焼酎粕清澄液に栄養源を添加し、麹菌を培養したところセラミド生産量はさらに増加したことから、焼酎粕清澄液のセラミド生産増加に関わる要因は、焼酎粕の低栄養源によるストレスが要因ではなく、焼酎粕中にセラミド産生を促進する因子が含まれていることが示唆された。今後、焼酎粕中に含まれるセラミド産生因子及びその作用機構について研究を進めることとしている。

5 謝辞

本研究の一部は平成 28 年度宮崎県産業廃棄物税使途事業により行われた。記して謝意を表す。

6 参考文献

- 1) J.van Smeden, L.Hoppel, R. van der Heijden, T.Hankemeier, R.J.Vreeken and J.A.Bouwstra. *J.Lipid Res.*, **52**, 1211-1221(2011)
- 2) K.Fujiwara, K.Kitatani, K.Fukushima, H.Kitano and T.Okazaki. *Int. J. Clin. Oncol.*, **16**, 133-140(2011)
- 3) 平田みよ, 浦野義崇, 稲葉繁樹, 北谷和之, 岡崎俊朗, 北垣浩志:醸協, **106**, 848-853(2011)
- 4) 北垣浩志, 平田みよ, 岡崎俊朗, 北谷和之:公開特許公報 2012-228246
- 5) 柚木恵太:公開特許公報 2012-41518
- 6) 久木崎雅人, 藤田依里, 高橋ゆかり, 小玉誠:公開特許公報 2016-42803
- 7) 小玉誠, 森谷亜希, 松本公彦, 久木崎雅人:宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, **61**, 13-19(2016)
- 8) K. Obara. *Rep. Noda Inst. Sci. Res.*, **57**, 48-50(2013)

LC-MS/MS による麴菌産生セラミドの構造解析

小玉 誠*¹・森谷 亜希*¹・松本 公彦*²・久木崎 雅人*³

Structural determination of ceramides from *Aspergillus kawachii* by LC-MS/MS

Makoto KODAMA, Aki MORITANI, Kimihiko MATSUMOTO and Masato KUKIZAKI

機能性素材として着目されているスフィンゴ脂質の一種であるセラミドについて、LC-MS/MSを用いた構造推定方法を開発した。これにより、焼酎粕液部により培養された麴菌が産生したスフィンゴ脂質として、2種のグルコシルセラミドと17種のセラミドの構造を推定した。麴菌産生セラミドは水酸基を多く持ち、保湿性に優れた素材となり得ることが示唆された。

キーワード：麴菌，セラミド，LC-MS/MS，構造解析

1 はじめに

スフィンゴ脂質は、長鎖塩基と脂肪酸がアミド結合したセラミドが骨格分子となり、糖鎖やホスホコリン等の極性基が付与された脂質群の総称である。

スフィンゴ脂質の機能性にはアトピー性皮膚炎や乾燥肌への著効¹⁾や、さまざまなシグナル伝達経路の活性化が知られている²⁾。また、経口接種することで大腸がんの予防効果も報告されている³⁾ことから、機能性脂質として今後大きな市場が見込まれる。

さまざまな素材からスフィンゴ脂質の抽出源に関する研究が行われる中、焼酎粕にスフィンゴ脂質が2.2 mg から 3.3 mg（乾燥重量 1 g あたり）の濃度で含まれており、その多くはグルコシルセラミドで麴菌に由来することが報告された⁴⁾。このことから、焼酎粕のスフィンゴ脂質を固液分離により、固形部から回収する技術が開発されたが、これらの手法では焼酎粕の約 9 割以上を占める液部が残存する。一方、焼酎粕液部には、醸造過程では分解されなかった糖質やタンパク質のほか、酵母によって生産させた有機酸等、豊富な有機源を保有している。

そこで我々は、麴菌由来のスフィンゴ脂質を積極的に生産・回収することを目的に、焼酎粕液部を培地として麴菌を培養する技術を確立した⁵⁾。以上の

研究において、麴菌由来スフィンゴ脂質の多くはセラミドであることを見出したが、構造を特定するには至っていない。スフィンゴ脂質の構造を明らかにすることは、その機能性や物性を評価・検討する上で、非常に重要である。

スフィンゴ脂質は構造が複雑であり、かつ多様な結合を持つが、近年、その構造解析に、質量分析装置とフラグメントイオン解析を利用して構造を決定する方法が報告された⁶⁾。そこで、本研究では、この技術を活用することにより、未知の構造のグルコシルセラミド及びセラミドの構造情報を得る手法を開発し、焼酎粕液部を培地として培養した麴菌のスフィンゴ脂質を解析したところ 2 種のグルコシルセラミドと 17 種のセラミドの構造を推定したので報告する。

2 実験方法

2-1 焼酎粕による麴菌の培養とスフィンゴ脂質の抽出

霧島酒造(株)から入手した焼酎粕を用い、既報⁷⁾に従い焼酎粕を固液分離した液部から焼酎粕清澄液を調整し、白麴から分離した麴菌株 (*Aspergillus luchuensis mut. kawachii*) を接種し培養した。培養された麴菌体は、培養液を孔径 1 μm のフィルタでろ過することにより分離し、真空凍結乾燥することにより乾燥物を回収した。スフィンゴ脂質は麴菌乾燥

*1 資源環境部

*2 資源環境部 (現 宮崎県総務部消防保安課)

*3 資源環境部 (現 宮崎県機械技術センター)

物から、既報⁴⁾に従い Bligh & Dyer 法により抽出し、LC-MS/MS 分析に供した。

2-2 LC-MS/MS

HPLC は Prominence (島津製作所) を用いた。カラムは kinetex C18(粒子径 2.6 μm , 直径 2.1 mm \times 長さ 75 mm, Phenomenex) を使用し、カラム温度は 40 $^{\circ}\text{C}$ とした。移動相 A は水:メタノール = 4:1 (v/v), 移動相 B は THF:メタノール = 4:1 (v/v) とし、それぞれ 0.01% (w/v) の酢酸アンモニウムを加えた。移動相の混合比は、0 min B 30%, 15 min B 90%, 25 min B 90% とし、流速 0.3 ml/min で行った。

HPLC からの溶出液はタンデム四重極型質量分析装置 API3200QTRAP (ABSciex) に導入し MS 及び MS/MS 分析を行った。イオン化はエレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法を用いた。プローブはオリフィスから垂直方向に 10 mm の位置に配置し、4500 V に荷電した。オリフィスの DP 電圧 (Decluster Potential) は 30 V に設定した。窒素を 20 ml/min の流速で流し、脱溶媒のために 300 $^{\circ}\text{C}$ で加熱しネブライザーガスは 70 ml/min で流した。スペクトラムは 500 - 850 m/z の範囲を 1 秒間でスキャンし取得した。

MS/MS 分析は、窒素ガスを衝突ガスとして用いる衝突誘導乖離 collision induced dissociation (CID) を

用いて行った。MS 分析により強度 5×10^5 以上で検出されたピークについて Selected Ion Monitor (SIM) によりプレカーサーイオンを単離し、コリジョンエネルギーは 30 V もしくは 45 V とし、プロダクトイオンを 50 - 800 m/z の範囲を 3 s でスキャンし取得した。

標準物質として、グルコシルセラミドは米由来、たもぎ茸由来及び小麦由来の Glucosylceramide mix (長良サイエンス(株)) の 3 種、セラミドは N-lignoceroyl-sphinganine (CER[NDS]), N-lignoceroyl-phytosphingosine (CER[NP]), N-(2'-(R)-hydroxylignoceroyl)-sphingosine (CER[AS]), N-(2'-(R)-hydroxylignoceroyl)-phytosphingosine (CER[AP]) (Avanti Polar Lipids, Inc.) の 4 種を用いた。

3 結果および考察

3-1 標準物質のフラグメントイオンの解析

3 種のグルコシルセラミド及び 4 種のセラミドの標準物質を LC-MS で分析したところ、それぞれ、10~12 min 及び 11~15 min に検出された。それぞれの標準物質の主成分をプレカーサーイオンとして MS/MS 分析を行った。たもぎ茸由来 Glucosylceramide mix に含まれる主成分及び CER[AP] のプロ

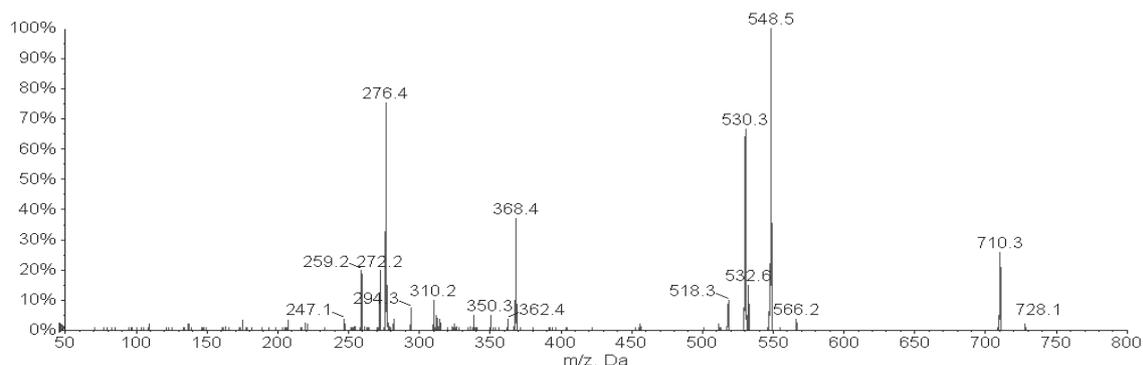


図1 たもぎ茸由来グルコシルセラミド m/z 728 のプロダクトイオンスキャン

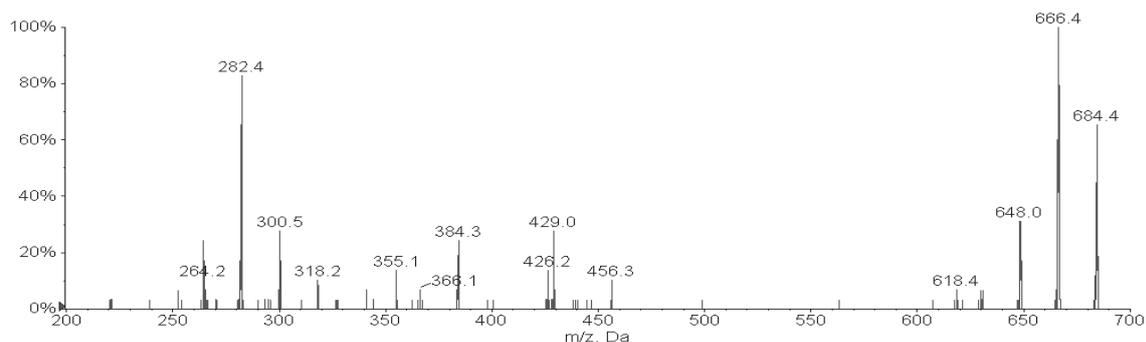


図2 CER[AP] m/z 684 のプロダクトイオンスキャン

ダクトイオンキャンの結果を図1, 2に示す. 検出されたフラグメントイオンの多くは $[M+H]^+$ の質量が偶数であることから, 窒素を1原子含むことが推測された. さらに, 標準物質の構造式から開裂位置をシミュレーションし, フラグメントイオンの質

量と適合させたところ, 炭素鎖は開裂しない状態で, セラミド, 長鎖塩基及び脂肪酸アミドに相当する分子種とともに, それぞれの構造に付加する水酸基やアミノ基が脱離した分子種等が $[M+H]^+$ として検出されることがわかった (図3, 4, 表1, 2). 特

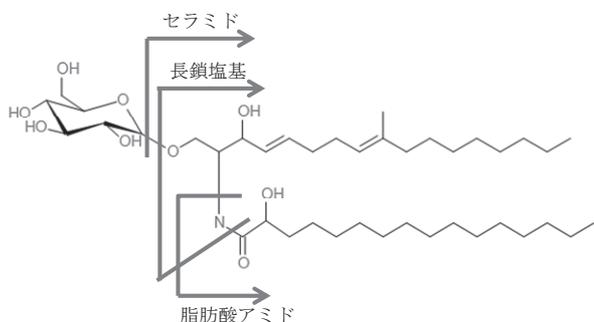


図3 たもぎ茸由来グルコシルセラミドの構造と開裂位置

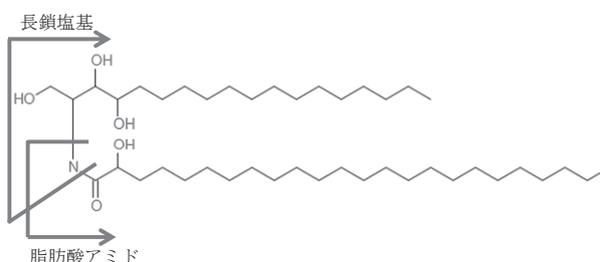


図4 CER[AP]の構造と開裂位置

表1 グルコシルセラミド標準物質のMS/MS分析により得られたフラグメントイオン

標準物質	主成分の構造	プリカーサーイオン	フラグメントイオン			
			セラミド	長鎖塩基	脂肪酸アミド	
米	d18:2-20h:0	770	608.6	280.5 (-H ₂ O)	328.2	
			590.5 (-H ₂ O)	262.2 (-2H ₂ O)		310.1 (-H ₂ O)
			572.6 (-2H ₂ O)	245.2 (-2H ₂ O-NH ₃)		
たもぎ茸	9Me d18:2-16h:0	728	566.5	294.4 (-H ₂ O)	272.2	
			548.6 (-H ₂ O)	276.2 (-2H ₂ O)		
			530.4 (-2H ₂ O)	259.2 (-2H ₂ O-NH ₃)		
小麦	d18:1-16h:0	716	554.5	300.2	272.2	
			536.4 (-H ₂ O)	382.1 (-H ₂ O)		
			518.4 (-2H ₂ O)	364.1 (-2H ₂ O)		
				247.5 (-2H ₂ O-NH ₃)		

表2 セラミド標準物質のMS/MS分析により得られたフラグメントイオン

標準物質	主成分の構造	プリカーサーイオン	フラグメントイオン			
			セラミド	長鎖塩基	脂肪酸アミド	
CER[NDS]	d18:0-C24:0	652	652.6	302.3	368.3	
			634.5 (-H ₂ O)	284.3 (-H ₂ O)		
			616.4 (-2H ₂ O)	266.3 (-2H ₂ O)		
				249.5 (-2H ₂ O-NH ₃)		
CER[NP]	t18:0-C24:0	668	668.6	318.2	368.3	
			650.4 (-H ₂ O)	300.5 (-H ₂ O)		
			632.4 (-2H ₂ O)	282.3 (-2H ₂ O)		
				264.3 (-3H ₂ O)		
CER[AS]	d18:1-C24h:0	666	648.5 (-H ₂ O)	282.4 (-H ₂ O)	384.4	
			630.4 (-2H ₂ O)	264.3 (-2H ₂ O)		366.4 (-H ₂ O)
				247.2 (-2H ₂ O-NH ₃)		
CER[AP]	t18:0-C24h:0	684	684.4	318.2	384.3	
			666.4 (-H ₂ O)	300.5 (-H ₂ O)		
			648.0 (-2H ₂ O)	282.4 (-2H ₂ O)		366.1 (-H ₂ O)
				264.2 (-3H ₂ O)		

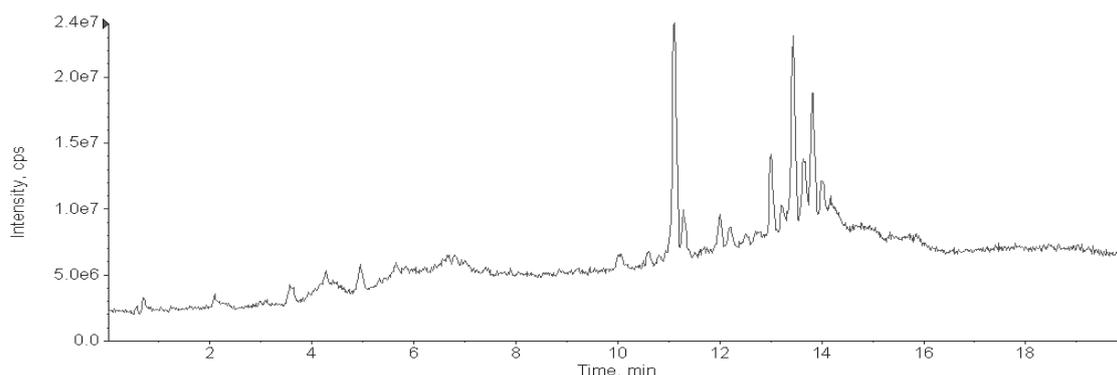


図5 麹菌抽出液のLC-MS分析

に、長鎖塩基に由来するフラグメントイオンは、脱水された分子種に相当するフラグメントイオンの種類と長鎖塩基に付加された水酸基の数が一致しており、さらに、全ての水酸基とともにアミノ基が脱離した構造に相当する分子種 $[M+H]^+$ が得られた。

一方、脂肪酸アミド由来のアミド結合が開裂した分子種 $[M+H]^+$ に相当するフラグメントイオンは得られないことから、それぞれのフラグメントイオンが長鎖塩基由来か脂肪酸由来かが判別できなかった。また、長鎖塩基に二重結合を持ち、二重結合の α 位に水酸基を持つ場合、その水酸基が脱離した長鎖塩基の構造に相当するフラグメントイオンは検出されたが、未脱離の長鎖塩基の構造に相当するフラグメントイオンは検出されなかった。このことから、二重結合の α 位に結合する水酸基は脱離しやすいことが推測された。

以上のことから、MS/MS分析により、セラミド及びそれを構成する長鎖塩基と脂肪酸基の分子量とともに、それぞれに付加する水酸基の数やその位置に関する情報が得られることから、グルコシルセラミド及びセラミドの構造を推定できることがわかった。

3-2 麹菌産生セラミドの構造推定

麹菌抽出液をLC-MSで分析した結果を図5に示す 5×10^5 以上の強度で検出されたピークについて、窒素ルールに従い $[M+H]^+$ の質量が偶数のイオンとして32種を選抜した。それぞれをプリカーサーイオンとしてMS/MS分析を行い、フラグメントイオンを検出した(表4)。その結果、標準物質と同様に、セラミド、長鎖塩基及び脂肪酸アミドに由来すると推測される分子種 $[M+H]^+$ が検出されたものが19種あった。19種のうち、2種(No. 20, 23)は標準物質CER[AP]とCER[NP]とリテンションタイム(RT)及

びフラグメントイオンが類似していたことから、それぞれの構造はt18:0-C24:0及びt18:0-C24h:0とした。残りの17種については、標準物質のMS/MS分析によって得られた情報に基づき、フラグメントイオンの解析を行った。すなわち、フラグメントイオンをセラミド、長鎖塩基及び脂肪酸アミド由来に分け、水酸基やアミド基の脱離数をまとめ、分子種 $[M+H]^+$ の質量から組成式を導くことにより、スフィンゴ脂質の分子構造を推定した。この結果、2種のグルコシルセラミドと17種のセラミドの構造を推定することができた。2種のグルコシルセラミド(No. 3, 5)は、本結果のみでは、モノヘキソシルセラミドのセ

表3 セラミドの構造ごとの分類とリテンションタイム(RT)

Group	RT	m/z	強度	推定構造
A	10.95	754	6.E+06	Glu-d18:2m-C18h:1
	11.18	756	5.E+05	Glu-d18:2m-C18h:0
B	11.83	592	5.E+06	d18m:2-C18h:1
	11.98	594	2.E+06	d18m:2-C18h:0
C	12.82	700	2.E+06	t18:0-C24h2:0
	13.03	714	4.E+05	t19:0-C24h2:0
	13.22	728	5.E+05	t20:0-C24h2:0
	13.42	742	3.E+05	t20:0-C25h2:0
	13.62	756	8.E+04	t20:0-C26h2:0
D	13.05	670	6.E+06	t18:0-C23h:0
	13.27	684	2.E+06	t18:0-C24h:0
	13.45	698	1.E+06	t19:0-C24h:0
	13.63	712	1.E+06	t20:0-C24h:0
	13.81	726	5.E+05	t20:0-C25h:0
	13.98	740	4.E+05	t20:0-C26h:0
E	13.53	668	1.E+04	t18:0-C24:0
	13.69	682	3.E+06	t19:0-C24:0
	13.85	696	5.E+06	t20:0-C24:0
	14.02	710	1.E+05	t20:0-C25:0

表4 麹菌抽出液のLC-MS/MS分析

ピーク No.	RT	強度	プリカーサー イオン	フラグメントイオン			推定構造
				セラミド	長鎖塩基	脂肪酸アミド	
1	10.65	5.E+05	740				
2	10.80	2.E+04	762				
3	10.95	6.E+06	754	574.5 (-H ₂ O) 556.6 (-2H ₂ O) 538.3 (-3H ₂ O)	294.3 276.4 (-H ₂ O) 259.4 (-H ₂ O-NH ₃)	298.3 280.2 (-H ₂ O)	Glc-d18:2m-C18h:1
4	10.95		776				
5	11.14	5.E+05	756	594 576.4 (-H ₂ O) 558.6 (-2H ₂ O) 540.5 (-3H ₂ O)	294.3 276.2 (-H ₂ O) 259.1 (-H ₂ O-NH ₃)	300.4	Glc-d18:2m-C18h:0
6	11.32		578				
7	11.62	3.E+05	756				
8	11.83	5.E+06	592	574.4 (-H ₂ O) 556.6 (-2H ₂ O) 538.4 (-3H ₂ O)	294.3 (-H ₂ O) 276.4 (-2H ₂ O) 259.4 (-2H ₂ O-NH ₃)	298.3 280.3 (-H ₂ O)	d18:2m-C18h:1
9	11.83	2.E+05	614				
10	11.98	8.E+05	594	576 (-H ₂ O) 558 (-2H ₂ O)	294.5 (-H ₂ O) 276.4 (-2H ₂ O) 259.5 (-2H ₂ O-NH ₃)	300.3	d18:2m-C18h:0
11	12.34	1.E+05	672				
12	12.80		680				
13	12.81	5.E+04	722				
14	12.82	2.E+06	700	700.2 682.1 (-H ₂ O) 664.6 (-2H ₂ O) 646.7 (-3H ₂ O)	318.4 300.5 (-H ₂ O) 282.4 (-2H ₂ O) 264.4 (-3H ₂ O) 247.1 (-3H ₂ O-NH ₃)	400.5 382.3 (-H ₂ O)	t18:0-C24h ₂ :0
15	12.92	2.E+05	642				
16	13.03	4.E+05	714	714.2 696.1 (-H ₂ O) 678.2 (-2H ₂ O) 660.3 (-3H ₂ O)	332.5 314.4 (-H ₂ O) 296.5 (-2H ₂ O) 278.4 (-3H ₂ O)	400.7	t19:0-C24h ₂ :0
17	13.05	4.E+05	670	670.7 652.7 (-H ₂ O) 638.6 (-2H ₂ O)	318.2 300.5 (-H ₂ O) 282.4 (-2H ₂ O) 264.4 (-3H ₂ O)	370.4	t18:0-C23h:0
18	13.22	5.E+05	728	728.5 710.2 (-H ₂ O) 692.3 (-2H ₂ O)	346.4 328.2 (-H ₂ O) 310.4 (-2H ₂ O) 292.5 (-3H ₂ O)	400.4 382.3 (-H ₂ O)	t20:0-C24h ₂ :0
19	13.27		654 or 656				
20	13.27	2.E+06	684	684.1 666.5 (-H ₂ O) 648.4 (-2H ₂ O) 630.5 (-3H ₂ O)	318.2 300.3 (-H ₂ O) 282.4 (-2H ₂ O) 264.2 (-3H ₂ O)	384.4 366.3 (-H ₂ O)	t18:0-C24h:0
21	13.42	3.E+05	742	742 724 (-H ₂ O) 706 (-2H ₂ O) 688 (-3H ₂ O)	346.4 328.3 (-H ₂ O) 310.1 (-2H ₂ O) 292.5 (-3H ₂ O)	414.3	t20:0-C25h ₂ :0
22	13.45	1.E+06	698	698.2 680.4 (-H ₂ O) 662.4 (-2H ₂ O) 644.5 (-3H ₂ O)	332.4 314.5 (-H ₂ O) 296.4 (-2H ₂ O) 278.4 (-3H ₂ O)	384.2	t19:0-C24h:0

ピーク No.	RT	強度	プリカーサーイオン	フラグメントイオン			推定構造
				セラミド	長鎖塩基	脂肪酸アミド	
23	13.49	3.E+05	668	668.1 650.5 (-H ₂ O) 632.5 (-2H ₂ O)	318.2 300.5 (-H ₂ O) 282.4 (-2H ₂ O) 264.4 (-3H ₂ O)	368.3	t18:0-C24:0
24	13.62	1.E+07	686				
25	13.62	8.E+04	756				t20:0-C26h ₂ :0
26	13.63	1.E+06	712	712.5 694.6 (-H ₂ O) 676.5 (-2H ₂ O) 658.5 (-3H ₂ O)	346.4 328.4 (-H ₂ O) 310.5 (-2H ₂ O) 292.5 (-3H ₂ O) 275.3 (-3H ₂ O-NH ₃)	384.3 366.3 (-H ₂ O)	t20:0-C24h:0
27	13.65	1.E+06	714				
28	13.69	2.E+05	682	682.3 664.0 (-H ₂ O) 646.0 (-2H ₂ O) 658.5 (-3H ₂ O)			t19:0-C24:0
29	13.81	5.E+05	726	726.5 708.5 (-H ₂ O)	346.3 328.2 (-H ₂ O) 310.3 (-2H ₂ O) 292.2 (-3H ₂ O)	398.2	t20:0-C25h:0
30	13.85	5.E+06	696	696.6 678.0 (-H ₂ O) 660.4 (-2H ₂ O)	346.5 328.5 (-H ₂ O) 310.5 (-2H ₂ O) 292.2 (-3H ₂ O) 275.3 (-3H ₂ O-NH ₃)	368.4	t20:0-C24:0
31	13.98	4.E+05	740	740.2 722.2 (-H ₂ O)	346.2 328.3 (-H ₂ O) 310.4 (-2H ₂ O) 292.4 (-3H ₂ O)	394.5 (-H ₂ O)	t20:0-C26h:0
32	14.02	4.E+04	710	710.2 692.4 (-H ₂ O)	346.4 328.4 (-H ₂ O) 310.5 (-2H ₂ O) 292.2 (-3H ₂ O)	382.4	t20:0-C25:0

ラミド部分が d19:2-C18h:0 及び d19:2-C18h:1 と推定されるに留まるが、既往の研究⁸⁾から麹菌由来のグルコシルセラミドとして、糖鎖がグルコースであり、また長鎖塩基にメチル基の側鎖が付く構造が報告されており、この構造と同一であることが示唆されることから、それぞれ、Glc-d18:2m-C18h:0 及び Glc-d18:2m-C18h:1 とした。また、セラミドとして d19:2-C18h:0 及び d19:2-C18h:1 と推定したもの (No. 8, 10) についても、当該グルコシルセラミドの糖が脱離した構造であることが推測されることから、d18:2m-C18h:0 及び d18:2m-C18h:1 とした。これら以外のセラミド 15 種については、長鎖塩基部は水酸基を 3 つ持ち、炭素鎖が 18 もしくは 20 の構造 (t18:0, t20:0) が主体であり、また、脂肪酸基部は炭素鎖が 24~26 と長鎖であり、不飽和結合を持たず、水酸基が 1 もしくは 2 個の構造のものが多かった。

構造を推定した 19 種のセラミドは、糖鎖、及び、水酸基の数や結合位置により化学的な性質が大きく異なることが推測された。このことから、糖鎖の有無、長鎖塩基及び脂肪酸基の水酸基の数ごと分類した。すなわち、グルコシルセラミドを Group A、長鎖塩基に 2 つの水酸基をもつセラミドを Group B、長鎖塩基に 3 つの水酸基を持ち、かつ、脂肪酸基に 2 つの水酸基をもつセラミドを Group C、1 つの水酸基をもつセラミドを Group D、水酸基をもたないセラミドを Group E とした (表 3)。それぞれの RT を見ると、炭素鎖が大きくなるごとに RT が等間隔に遅れていることがわかり、このことは推定構造の確度が高いことを示している。

表皮においては、セラミドの疎水性尾部の構造として、脂肪酸の炭素鎖数が長いほど、ラメラ構造体における分子間ファンデルワールス力が強まり水分蒸散を抑制するなどの高バリア力を発揮するとの報

告がある⁹⁾。また、親水性頭部に水酸基が多いほど、強い水素結合能により安定な膜を構築できることが推測される。これらのことから、麹菌産生セラミドは脂質膜構成セラミドとして高い優位性をもつことが示唆された。

4 まとめ

スフィンゴ脂質の標準物質をLC-MS/MSにより分析することで、スフィンゴ脂質特異的なフラグメントイオン発生パターンを見出し、グルコシルセラミド及びセラミドの構造推定方法を確立した。これにより焼酎粕液部を培地として培養した麹菌が生産するスフィンゴ脂質として、2種のグルコシルセラミドと17種のセラミドの構造を推定することができた。

セラミドのうち、脂肪酸基に水酸基を持つ構造のセラミドの検出強度が高く、特に2個の水酸基を持つものも多く存在した。水酸基の多いセラミドは保湿性が高いといわれており、麹菌産生セラミドの優位性を示すことができた。

5 謝辞

本研究は平成28年度宮崎県産業廃棄物税使途事業により行われた。記して謝意を表す。

6 参考文献

- 1) J.van Smeden, L.Hoppel, R. van der Heijden, T.Hankemeier, R.J.Vreeken and J.A.Bouwstra. *J.Lipid Res.*, **52**, 1211-1221(2011)
- 2) Y.A.Hannun and L.M.Obeid. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **67**, 101-110(2012)
- 3) K.Fujiwara, K.Kitatani, K.Fukushima, H.Kitano and T.Okazaki. *Int. J. Clin. Oncol.*, **16**, 133-140(2011)
- 4) 平田みよ, 浦野義崇, 稲葉繁樹, 北谷和之, 岡崎俊朗, 北垣浩志:醸協, **106**, 848-853(2011)
- 5) 久木崎雅人, 藤田依里, 高橋ゆかり, 小玉誠:公開特許公報 2016-42803
- 6) M.C.Sullards, D.V.Lynch, A.H.Merrill Jr and J.Adams. *J.Mass Spectrom.*, **35**, 347-353(2000)
- 7) 小玉誠, 森谷亜希, 小境敏揮, 河野邦晃, 岩井謙一, 高瀬良和, 松本公彦, 久木崎雅人:宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告, **61**, 7-11(2016)
- 8) M.Hirata, K.Tsuge, L.N.Jayakody, Y.Urano, K.Sawada, S.Inaba, K.Nagano and H.Kitagaki. *J.Agric. Food Chem.*, **60**, 11473-11482(2011)
- 9) K.Joo, G.Nam, S.Y.Park, J.Y.Han, H.Jeong, S.Lee, H.K.Kim, K.Lim. *J Dermatol Sci*, **60**, 47-50(2010)

粉体試料の粒度が蛍光 X 線分析結果に及ぼす影響

山本 建次*¹・濱山 真吾*¹

Effect of Particle Size on Fluorescent X-ray Analysis Results of Powder Sample

Kenji YAMAMOTO and Shingo HAMAYAMA

蛍光 X 線分析は、各種材料に含まれる元素を分析する手段として、広く普及している。特に波長分散型の蛍光 X 線分析装置で分析を行う場合には、分析面を平滑にすることが要求され、粉体試料においてはその粒度が重要となるが、粒度と分析結果の相関を具体的に示した報告例は少ない。そこで本研究では、ガラス材料を例に、粉体試料の粒度が分析結果に及ぼす影響について調べた。その結果、粉体の粒度が粗くなるにつれ、検出される蛍光 X 線強度の低下度合が大きくなり、それに伴って分析値の変動度合も大きくなることが分かった。すなわち、信頼性の高い分析結果を得るためには、粉体試料の粒度をより細かく整えておくことが重要であることが示された。

キーワード：粉体，粒度，蛍光 X 線，分析値，ガラス材料

1 はじめに

波長分散型の蛍光 X 線分析装置で分析を行う際の代表的な試料の前処理方法として、粉碎処理により試料を粉体化した後、加圧処理によりペレット化する粉体加圧成形法が挙げられる。ただし、粉体試料については、その粒度が分析結果に少なからず影響を及ぼすことが知られている¹⁾²⁾。

そこで、本研究では、ガラス材料を例に、粒度の異なる粉体試料を調製し、試料の粒度が蛍光 X 線強度および分析値に及ぼす影響について調べた。

次に、粉体①～④それぞれを直径 30 mm 用ポリ塩化ビニル製リング内に約 4.5 g 充填し、加圧成形機（島津金属工業㈱，MP-30）を用いて約 20 t の加圧処理によりペレット化した（図 2）。なお、ペレットは、各試料 3 個ずつ調製した。



図 1 分析試料

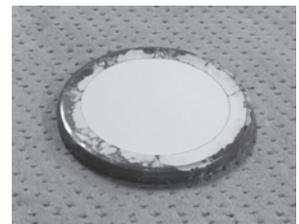


図 2 前処理後の分析試料

2 実験方法

2-1 分析試料の前処理

分析試料として、二酸化ケイ素（ SiO_2 ）を主成分とする図 1 のガラス材料を準備し、まず、これをハンマーおよび振動ボールミル（三田村理研工業㈱，MM-2）を用いて粉碎し、さらにステンレスふるいを用いて①45 μm 未満，②45～106 μm ，③106～180 μm ，④180～300 μm の 4 水準の粒度に分級することにより、粉体①～④を得た。なお、粒度 300 μm 以上の粉体については、加圧処理によるペレット化が困難であったため、分析試料から除外した。



図 3 蛍光 X 線分析装置

*1 材料開発部

2-2 粉体試料の蛍光 X 線分析

上記 2-1 で調製した粉体①～④のペレット（各 3 個）について、図 3 の波長分散型蛍光 X 線分析装置（理学電機工業㈱，ZSX-100e）を用いて、分析径 30 mm，分析元素範囲 $9F \sim 92U$ ，総分析時間約 40 min の条件で 1 回ずつ（N=3 で）蛍光 X 線分析を行い、分析結果として、蛍光 X 線強度（各元素特有の分析線の強度）およびファンダメンタルパラメータ法（FP 法）による分析値（酸化物換算の含有量）の 3 回平均値を得た。さらに、粉体①～④のすべて

において分析値が 1 mass%以上となった元素を主要な検出元素として評価対象に選定し、粒度が最も小さい粉体①（45 μm 未満の粒度）の分析結果を基準（100）とした時の粉体②～④の分析結果（相対値）を比較することにより評価した。

3 結果および考察

3-1 粉体粒度が蛍光 X 線強度に及ぼす影響

粉体①～④の主要な検出元素の分析線およびその蛍光 X 線強度を表 1 に、粉体①（45 μm 未満の粒

表 1 分析線および蛍光 X 線強度

	Na-K α	Mg-K α	Al-K α	Si-K α	K-K α	Ca-K α	Fe-K α
粉体① <45 μm	8.304 (100.0)	20.20 (100.0)	102.4 (100.0)	426.0 (100.0)	88.02 (100.0)	390.9 (100.0)	64.34 (100.0)
粉体② 45-106 μm	8.178 (98.49)	19.75 (97.81)	100.3 (98.00)	419.5 (98.49)	87.03 (98.88)	388.9 (99.50)	64.35 (100.0)
粉体③ 106-180 μm	7.860 (94.65)	19.01 (94.13)	96.49 (94.25)	402.2 (94.41)	85.30 (96.91)	381.3 (97.56)	64.37 (100.0)
粉体④ 180-300 μm	7.525 (90.63)	18.25 (90.35)	92.94 (90.79)	386.7 (90.78)	82.77 (94.04)	370.4 (94.77)	62.61 (97.31)

上段は、蛍光 X 線強度 (単位: kcps)
下段 () 内は、粉体①を 100 とした時の相対値

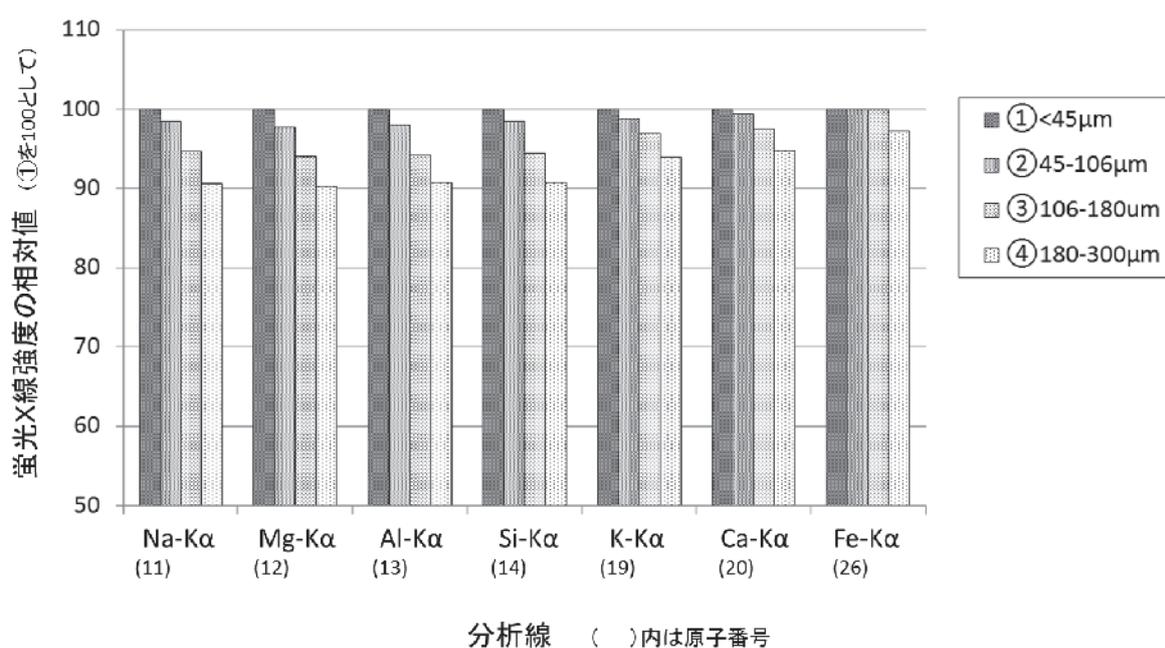


図 4 蛍光 X 線強度の相対比較

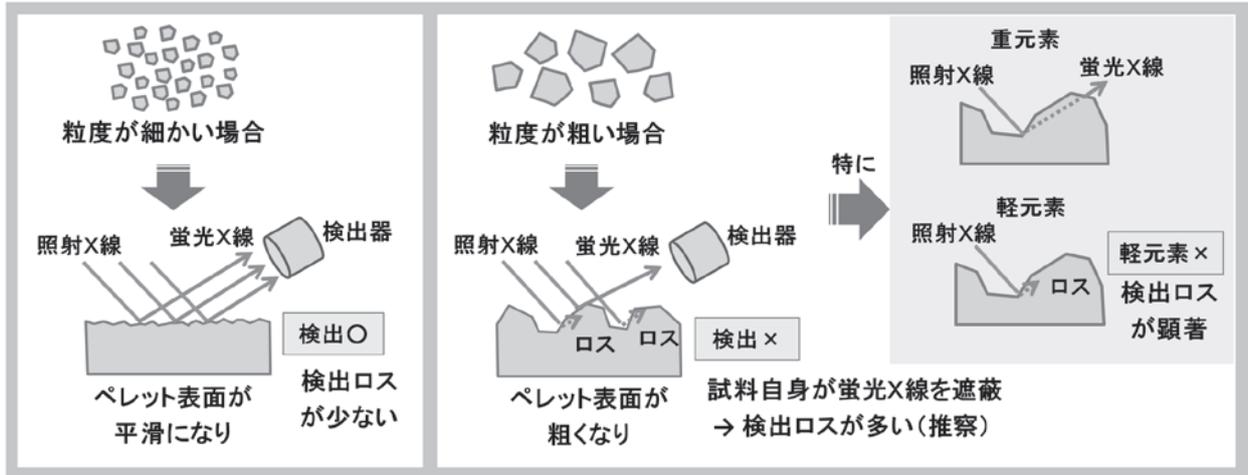


図5 蛍光 X 線強度の低下に係る考察

度)を基準(100)とした時の各試料の相対値を表1および図4に示す。各分析線ともに、粉体の粒度が粗くなるにつれ、蛍光 X 線強度が低下する傾向が見られた。これは、図5に示すとおり、粉体の粒度が粗いためにペレット化後の試料表面も粗くなり、検出器とは別方向に散乱される蛍光 X 線が増加(つまり、検出ロスが増加)したためと考えられる。粉体①と比較した場合、粉体②(106 μm未満の粒度)では蛍光 X 線強度の低下が2.2%以内(相対値97.8以上)に収まっているが、粉体③~④(106 μm以上の粒度)では低下が5%を超える元素が多数見られた。

また、蛍光 X 線強度の低下度合は、軽元素ほど大きくなる傾向が見られ、¹¹Na(ナトリウム)~

¹⁴Si(ケイ素)においては、粉体④で10%近い低下が見られた。これは、原子番号が小さなものほど蛍光 X 線が試料自身に吸収され、検出器に向かう蛍光 X 線が減少(つまり、検出ロスが増加)したためと推察される。

3-2 粉体粒度が分析値に及ぼす影響

粉体①~④の主要な検出元素の成分名およびその分析値を表2に、粉体①を基準(100)とした時の各試料の相対値を表2および図6に示す。

蛍光 X 線強度が低下したことにより、各成分の分析値が変動しており、粉体の粒度が粗くなるにつれ、変動度合が大きくなる傾向が見られた。粉体①と比較した場合、粉体②(106 μm未満の粒度)では分析値の変動が1.6%以内(相対値が98.4

表2 成分名および分析値

	Na ₂ O	MgO	Al ₂ O ₃	SiO ₂	K ₂ O	CaO	Fe ₂ O ₃
粉体① <45μm	5.717 (100.0)	7.550 (100.0)	10.29 (100.0)	52.79 (100.0)	3.001 (100.0)	17.50 (100.0)	2.302 (100.0)
粉体② 45-106μm	5.726 (100.2)	7.509 (99.46)	10.24 (99.59)	52.81 (100.0)	3.011 (100.3)	17.69 (101.1)	2.340 (101.6)
粉体③ 106-180μm	5.714 (99.96)	7.500 (99.34)	10.22 (99.34)	52.47 (99.39)	3.052 (101.7)	17.98 (102.7)	2.438 (105.9)
粉体④ 180-300μm	5.684 (99.43)	7.474 (99.00)	10.22 (99.31)	52.35 (99.16)	3.070 (102.3)	18.12 (103.5)	2.465 (107.1)

上段は、分析値(単位: mass%)
下段()内は、粉体①を100とした時の相対値

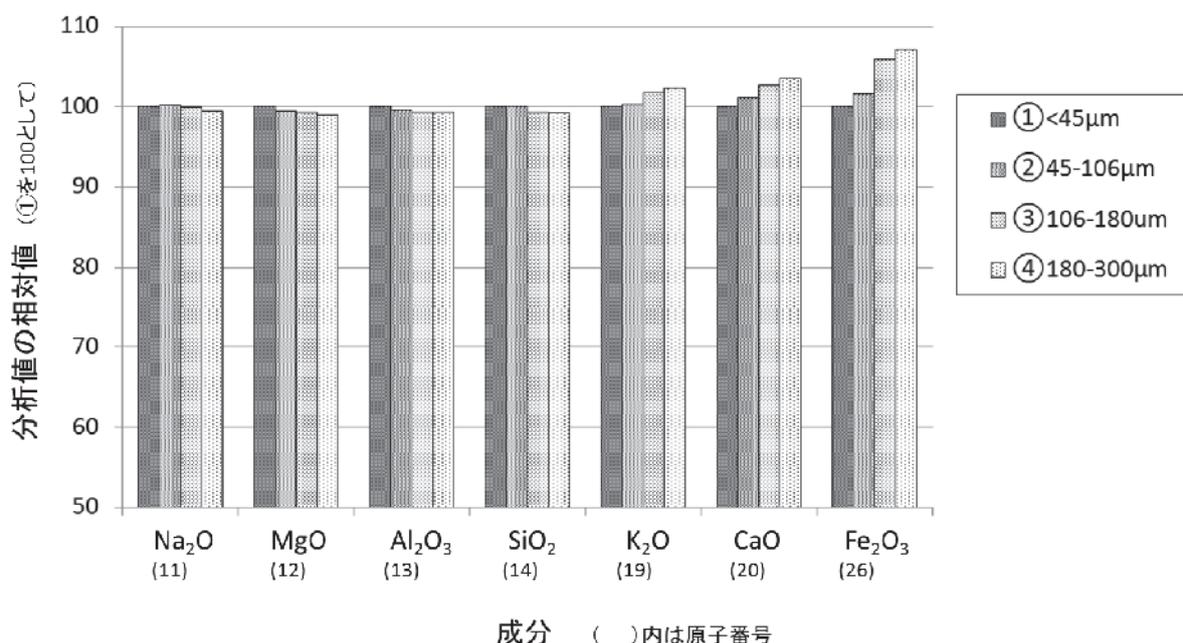


図6 分析値の相対比較

～101.6 の範囲内) に収まっているが、粉体③～④ (106 μm 以上の粒度) では変動が 5% を超える成分も見られた。

また、分析値の変動割合は、成分ごとに異なっており、主成分である SiO₂ および ¹⁴Si に原子番号の近い Na₂O (酸化ナトリウム), MgO (酸化マグネシウム), Al₂O₃ (酸化アルミニウム) では 1% 以内の変動であったが、それ以外の成分については、元素番号が大きくなるにつれ、分析値の変動割合が大きくなっており、Fe₂O₃ (酸化鉄) で最大 7.1% の上昇が見られた。

なお、上記の変動割合は、FP 法に関するものであるが、検量線法の場合には、検出された蛍光 X 線強度が分析値にそのまま反映され、さらに大きな変動として現れることが予想されるため、粉体試料の粒度調整が極めて重要になると考えられる。

4 まとめ

粉体試料の粒度が分析結果に及ぼす影響について調べた結果、粉体の粒度が粗くなるにつれ、蛍光 X 線強度の低下割合が大きくなり、それに伴って分析値の変動割合も大きくなることが分かった。具体的には、106 μm 未満の細かい粒度であれば、FP 法での分析値の変動が 1.6% 以内に収まったが、106 μm 以上の粗い粒度の場合には、分析値の変動が 5% を超える成分も見られた。

以上の結果から、信頼性の高い分析結果を得るためには、粉体試料の粒度をより細かく整えておくことが重要と考えられる。

5 参考文献

- 1) 株式会社リガク：蛍光 X 線分析実習テキスト, 59-72 (1997)
- 2) 株式会社リガク：蛍光 X 線分析の手引, 87-110 (2015)

油中ナノ粒子分散体の製造方法の開発

濱山 真吾*¹・山本 建次*¹・清水 正高*²

Development of Method of Producing Nanoparticle-in-Oil Dispersion

Shingo HAMAYAMA, Kenji YAMAMOTO and Masataka SHIMIZU

食品や化粧品分野等での活用が見込まれる高品位、低コストの新規ナノ分散液調製方法の開発を目的として、有効成分水溶液を油に分散させた W/O エマルジョン型前駆体から脱水する条件を検討した。その結果、沸騰を伴った脱水を行った場合は、W/O エマルジョン型前駆体の液滴径に関わらず、粒子径が一定のナノオーダーのサイズに収束するという見出しを見出した。また、得られた油中ナノ粒子分散体は、W/O エマルジョン型前駆体よりシャープな粒度分布を有していたことから、本技術を用いることで比較的粒子径の揃ったナノ分散液が簡便な操作で調製可能であることが示された。さらに、従来の減圧脱水法と比較して、脱水時間を短縮でき、製造効率が大幅に改善できた。

キーワード：油中ナノ粒子分散体、ナノ分散液、沸騰、W/O エマルジョン型前駆体

1 はじめに

様々な分野において、ナノテクノロジーの重要性が叫ばれるようになって久しいが、現在もより機能的なナノ粒子を、より低コストで製造することを目指して、当該技術は日々進歩している。その中で、水溶性の有効成分が油の中にナノサイズで存在している分散液への注目も年々高まっている。当県においても、ナノ分散液を製造するための技術¹⁾³⁾を開発し、実用化に向けて取り組んできた。

油中に有効成分をナノ分散させる方法としては、有効成分水溶液を油に分散させた W/O エマルジョン型前駆体を調製し、加熱脱水、減圧脱水または凍結乾燥により水滴中の水分を除去することで、溶解していた有効成分粒子を析出させるものなどがある。

しかし、上記の方法を用いた場合、脱水後の粒子径は、後述の(1)式のとおり、脱水前の液滴径や水溶液濃度により制御される。これは、脱水後の粒子径を設計できるというメリットである一方で、ナノサイズの粒子を得るためには、水溶液濃度を極端に低くするか、特殊な処理等を行い、液滴径を小さくする必要があるというデメリットでもある。

そこで当県では、これらのデメリットを解消し、より簡便な操作で油中に有効成分ナノ粒子を高濃度で分散させた「油中ナノ粒子分散体」が調製できる方法を確立し、特許出願⁴⁾に至ったため、本報において、その一部を報告する。

2 実験方法

2-1 油中ナノ粒子分散体の調製方法

油中ナノ粒子分散体の調製フローを図 1 に示す。

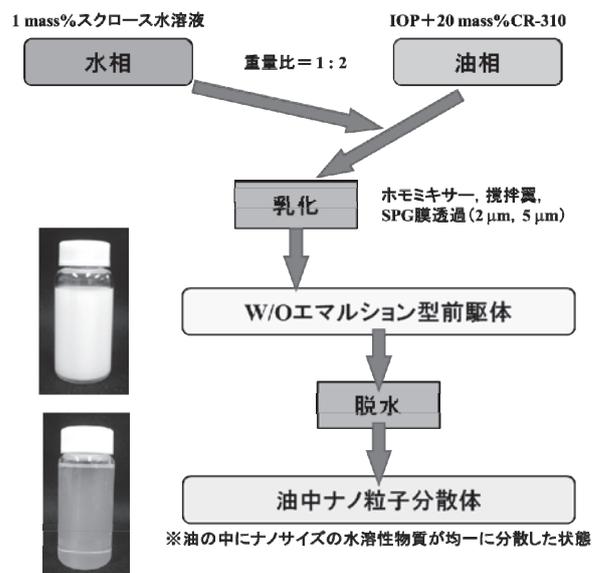


図 1 油中ナノ粒子分散体の調製フロー

*1 材料開発部

*2 資源環境部

まず、W/O エマルション型前駆体を調製するため、水相として 1 mass% のスクロース水溶液を 100 g、油相として界面活性剤が 20 mass% 溶解したパルミチン酸イソオクチル (IOP) 溶液を 200 g 用意した。ここで、油相に溶解させる界面活性剤は、テトラグリセリン縮合リシノレイン酸エステル (阪本薬品工業株, CR-310) を使用した。この水相を油相に分散させるため、ホモミキサー (IKA ジャパン株, T25) を用いて 24,000 rpm × 1 min, またはスリーワンモーター (新東科学株, BL600) を用いて 600 rpm × 10 min の条件で乳化した。さらに、スリーワンモーターを用いて上記と同じ条件で乳化させた W/O エマルションを、細孔径が 5 μm または 2 μm の多孔質ガラス膜 (エス・ピー・ジーテクノ株, 疎水化処理有り) に 0.2 MPa または 1.0 MPa で圧入することで、液滴径が約 5 μm または 2 μm に揃った W/O エマルション型前駆体を調製した。

次に、エバポレーター (IKA ジャパン株, RV10 control) を用いて、表 1 の条件で W/O エマルション型前駆体を脱水することで、水相中に溶解していたスクロースが、ナノ粒子として油相中に分散した油中ナノ粒子分散体を得た。

2-2 液滴径および粒子径の評価方法

W/O エマルション型前駆体の平均液滴径は、灯油を分散媒として、レーザー回折式粒度分布測定装置 (株島津製作所, SALD-7100) を用いて測定した。

また、脱水後の平均粒子径は、動的光散乱光度計 (大塚電子株, ELSZ-2) を使用し、25°C においてバッチ式セルにて測定した。なお、サンプル 5 においては、動的光散乱光度計で正確に測定できる粒子径ではなかったため、脱水前の液滴径と同様に、

レーザー回折式粒度分布測定装置により測定した。

3 結果および考察

3-1 液滴径が粒子径に及ぼす影響

ここで、W/O エマルション型前駆体の液滴径が脱水後の粒子径に及ぼす影響について考察する。表 1 に W/O エマルション型前駆体の液滴径および脱水後の粒子径、図 2 にそれらの関係を示す。

当県保有特許²⁾に記載のとおり、W/O エマルション型前駆体が沸騰しないような穏やかな条件で脱水した場合、脱水前の液滴径と脱水後の粒子径には次式のような関係が成立する。

$$D_s = \left(\frac{M_s \cdot C_s}{\rho} \right)^{1/3} \cdot D_w \quad (1)$$

ここで、 D_s は脱水後の粒子径、 D_w は W/O エマルション型前駆体の液滴径、 M_s は水溶性物質の分子量、 C_s は水相中における水溶性物質の体積モル濃度、 ρ は水溶性物質の密度を表す。

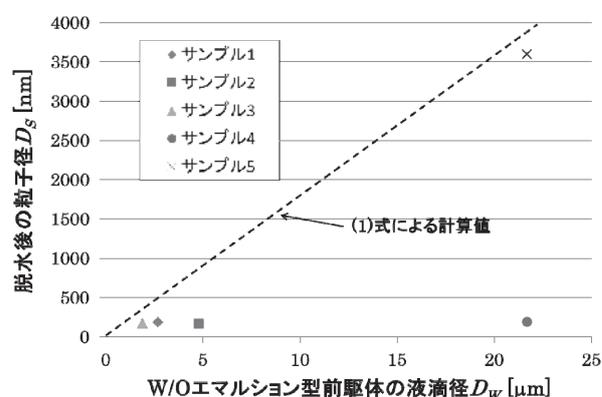


図2 脱水前後の液滴径および粒子径の関係

表 1 実験条件ならびに脱水前後の液滴径および粒子径

	乳化方法	脱水条件	脱水前の液滴径	脱水後の粒子径
サンプル 1	ホモミキサー (24,000 rpm, 1 min)	60°C, 10 kPa, 40 min (沸騰あり)	2.7 μm (2,700 nm)	189 nm
サンプル 2	SPG 膜透過 (5 μm)	60°C, 10 kPa, 40 min (沸騰あり)	4.8 μm (4,800 nm)	176 nm
サンプル 3	SPG 膜透過 (2 μm)	60°C, 10 kPa, 40 min (沸騰あり)	1.9 μm (1,900 nm)	174 nm
サンプル 4	スリーワンモーター (600 rpm, 10 min)	60°C, 10 kPa, 40 min (沸騰あり)	21.7 μm (21,700 nm)	195 nm
サンプル 5	スリーワンモーター (600 rpm, 10 min)	60°C, 20 kPa, 180 min (沸騰なし)	21.7 μm (21,700 nm)	3.6 μm (3,600 nm)

しかし、図2に示すとおり、脱水時に飽和水蒸気圧以下に減圧した場合、すなわち沸騰を伴って脱水した場合は、(1)式に従わないことが明らかになった。つまり、W/O エマルション型前駆体の液滴径に関わらず、組成や脱水条件が同じであれば、粒子径が一定のナノオーダーのサイズに収束するというのである。これは、高濃度のナノ分散液を高効率で製造できることを意味しており、ものづくり分野において非常に画期的な発見になると思われる。

3-2 脱水条件が粒子径に及ぼす影響

次に、脱水条件が及ぼす脱水後の粒子径への影響について考察するため、同じ W/O エマルション型前駆体を用いたサンプル4とサンプル5を比較する。

(1)式によると、今回の調製条件では、脱水後の粒子径は液滴径の約18%となる計算であり、穏やかに脱水したサンプル5については、概ね計算値どおりの約4 μm の粒子径であると言える。一方で、沸騰を伴って脱水したサンプル4の粒子径は195 nmであり、(1)式による計算値より著しく小さなサイズとなっていることが明らかになった。

ここで、図3にサンプル4およびサンプル5の脱水前後の粒度分布を示す。(1)式に従う場合、脱水前後における粒度分布の幅、つまり単分散性は変化しない。そのため、粒子径の揃った分散液が必要な場

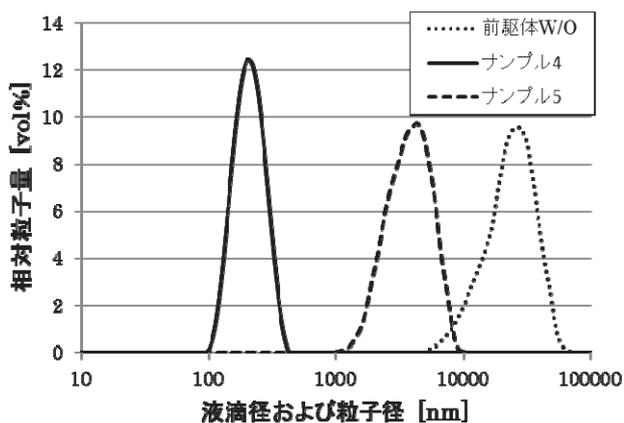


図3 サンプル4およびサンプル5の粒度分布図

合は、単分散な W/O エマルション型前駆体を調製する必要があった。しかし、図3に示すとおり、沸騰を伴って脱水したサンプル4は、脱水前の液滴径より粒度分布幅が狭くなっている。このことから、本技術では、比較的粒子径の揃ったナノ分散液が簡便な操作で調製可能であることが示された。

なお、脱水時間が4分の1以下に短縮できたことから、これまでの手法に比べ、製造効率を大幅に改善させることができたと考えられる。

4 まとめ

高品位、低コストのナノ分散液調製を目的として、W/O エマルション型前駆体を沸騰脱水する新規調製方法を検討した。その結果、沸騰を伴った脱水を行った場合は、組成や脱水条件が同じであれば、W/O エマルション型前駆体の液滴径に関わらず、粒子径が一定のナノオーダーのサイズに収束するという見出し。また、得られた油中ナノ粒子分散体は、W/O エマルション型前駆体よりシャープな粒度分布を有していた。このことから、本技術を用いることで、比較的粒子径の揃ったナノ分散液が簡便な操作で調製可能であることが示された。さらに、従来の減圧脱水法と比較して、脱水時間が短縮されたことから、製造効率が大幅に改善できた。

5 参考文献

- 1) 清水正高, 松田成信, 中島忠夫: 第36回 SPG フォーラム講演要旨集, 70-73(2001)
- 2) 特許「S/O サスペンション及びその製造方法」(2009年7月31日登録, 特許第4349639号, 宮崎県)
- 3) 特許「油性外用製剤及びその製造方法」(2014年5月9日登録, 特許第5531230号, 宮崎県, 中森製薬(株))
- 4) 特許「油中ナノ粒子分散体の製造方法」(2015年1月26日出願, 特願2015-12854, 宮崎県)

LED 光照射がシイタケの形質等に及ぼす影響

山下 一男*¹・新田 剛*²・溝添 暁子*³・高橋 克嘉*⁴・鳥原 亮*¹

Effect of LED Lighting on Characteristics of *Lentinula edodes*

Kazuo YAMASHITA, Takeshi NITTA, Akiko MIZOZOE, Katsuyoshi TAKAHASHI
and Ryo TORIHARA

当県の生シイタケの 9 割以上が菌床栽培で生産されており、生産経費の削減や生産効率の向上、生産物の高付加価値化を実現する新たな栽培技術の開発が求められている。そこで、LED 利用によるシイタケの形質等の制御技術の開発を目指して検討を行った。発生段階の光環境の違いがシイタケの形質にどのような影響を及ぼすのか調査するため、異なる光環境で菌床シイタケの栽培実験を行った結果、青色に近い波長領域の光環境と、赤色および黄色の光環境とでは、傘の色の濃淡、柄の長さ等性質の異なる子実体となる傾向が示され、子実体発生時の光環境を制御することで、子実体の形質を制御できる可能性があることが分かった。

キーワード：LED、シイタケ、菌床栽培、光環境、発光波長

1 はじめに

LED（発光ダイオード）は、他の光源に比べ消費電力が小さく、発光効率（エネルギーの可視光変換率）も高く、また、スペクトル幅の狭い単色光を得ることができる等の特長を有している。このため、照明のみならず幅広い用途で活用されており、様々な分野で研究・開発が進められている。中でも農林業の分野では、生物等の成長過程における光に対する反応がその成長に影響するとされていることから、植物や林産物を対象として、LED の特長を利用した新たな栽培技術開発に関する研究が広く行われている。

森林資源に恵まれた当県においては、シイタケ栽培も盛んであり、生シイタケは全国 9 位（農林水産省、平成 27 年特用林産基礎調査）の生産量を誇る。この生シイタケ生産量の 9 割以上は菌床栽培で生産されているが、今般、生産経費の削減や生産効率の向上、生産物の高付加価値化は、菌床シイタケ生産現場における重要な課題であり、この解題解決に向

けた新たな栽培技術の開発が求められている。

シイタケの菌床栽培における LED の活用については、これまで、阿部¹⁾により培養後期（熟成期間）のシイタケ菌床への青色 LED 光の照射が、子実体発生量の増加および M サイズ以上の発生個数の増加に影響することが報告されており、シイタケの成長過程における光環境を制御することによる、収量の向上や特定成分の増強などの効果が期待される。

そこで、本研究では、LED の持つ特長を利用したシイタケの生産制御技術の開発を目指し、発生段階での光環境の違いがシイタケの子実体発生量や形質等にどのような影響を及ぼすのか調査するため、異なる光環境での栽培実験を行ったので報告する。

なお、この実験は、当県試験研究機関の連携による共同研究として、林業技術センターおよび食品開発センターと共同で取り組んだものである。

2 実験方法

2-1 実験用菌床の作製

基材（広葉樹木粉）：29%、栄養材（ふすまおよび米ぬか）：9%、水分：62%となるように調製した培地をポリプロピレン製の栽培袋に 2.7kg ずつ詰め、118℃で 50 分間滅菌した。滅菌後一晩放冷した

*1 機械電子部
*2 宮崎県林業技術センター
*3 食品開発部
*4 食品開発部（現 資源環境部）

この菌床培地の上面にシイタケ菌 600 号(榊北研製) 約 12g を接種し、温度 20℃、相対湿度 70%に制御した環境において暗黒下で 103 日間培養した。

2-2 実験用 LED 光源

実験では、LED を用いて発光波長の異なる様々な光環境を実現する必要があるため、実験用の光源として、多くの異なる発光波長を有し、多様な発光パターンで光環境を制御できる光源装置を製作した。主波長の異なる 13 種の LED を搭載し、それぞれの LED 群を独立して調光制御することができるようにしたもので、パルス点灯やプログラム自動運転等、細かな運転設定が行える。光源装置の運転操作に Android 上で動作する専用のアプリを開発し、タブレット端末を用いて操作する構成とした。

2-3 光照射実験

実験フィールドとする発生室の内部に、遮光シートを用いて区画を施し、実験用 LED 光源を取り付けた主波長の異なる 4 つの LED 光を照射する区と蛍光灯および暗黒の計 6 つの試験区を設けた。なお、蛍光灯の区は、遮光シートによる区画は行わず、庫内天井の照明を光源とした。LED 光の試験区の光強度は、培養後期のシイタケ菌床への青色 LED 光照射を報告した阿部¹⁾の方法を参考に、菌床の上面で受ける光量子束密度が $10\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 程度となるよう光源の出力を調整した。各試験区の光条件および分光放射照度計(コニカミノルタ株, CL-500A)で測定した光量子束密度を表 1 に示す。

表 1 試験区の光条件

区	光環境	主波長 [nm]	光量子束密度 [$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$]
1	蛍光灯	—	5.20
2	暗黒	—	—
3	紫外 LED	370	7.04
4	青色 LED	460	11.09
5	黄色 LED	590	9.57
6	赤色 LED	660	8.20

実験は、9 月から 2 月にかけて実施した。各区とも 6 個の菌床を配置し、温度 17℃、相対湿度 80%以上に制御した環境下において、上面栽培法により子実体を発生させた。初回の発生後は、21~28 日ご

とに菌床の上面のみを浸水する発生操作を繰り返し、計 7 回子実体を発生させた。この期間中、LED および蛍光灯の 5 つの区では、毎日 6 時から 18 時まで光源を点灯させた。子実体は 7~8 分開きを基準に収穫した。

2-4 子実体の収量および外観の調査

1) 収量・大きさ

収穫した子実体は、傘の大きさを 2L(直径 8 cm)以上)、L(直径 8~6 cm)、M(直径 6~4 cm)、S(直径 4~3 cm)、2S(直径 3 cm 未満)、O(奇形)のサイズ別に仕分けして、発生個数と生重量を記録した。また、M および L サイズの子実体を対象に、柄の長さ、柄の太さ、傘の大きさをデジタルノギスで計測した。

2) 傘の色彩

土色計(コニカミノルタ株, SPAD-503)を用いて、傘の表面の明度、色度を計測し、 $L^*a^*b^*$ 表色系の値で表した。

2-5 遊離アミノ酸含量の調査

1) シイタケの前処理

真空凍結乾燥装置(FTS SYSTEM, Dura-Top MP & Dura Dry MP)を用いて乾燥シイタケを調整した。この乾燥シイタケを超遠心粉砕機で粉砕し、0.5 mm スクリーンを通して乾燥シイタケ粉末を得た。この粉末 0.5 g を 100 ml の蒸留水で抽出した。抽出後は、0.45 μm フィルターでろ過し、試料溶液を得た。

2) 遊離アミノ酸の測定

試料を 0.02 N HCl にて適宜希釈し、アミノ酸分析計(榊日立製作所, L-8900 BF, 検出: ニンヒドリン発色法)により定量した。結果は、乾燥シイタケ粉末 1 g あたりの重量 (mg) に換算した。

3 結果および考察

3-1 子実体の収量および外観に及ぼす影響

1) 収量・大きさ

図 1 に試験区ごとの 1 菌床あたりの子実体発生重量を示した。蛍光灯>暗黒>紫外 LED>黄色 LED>青色 LED>赤色 LED の順となり、蛍光灯の区が最も収量が高い結果となった。

図 2 に試験区ごとのサイズ別の子実体発生割合(個数)を示した。比較的市場価値が高いとされる M サイズ以上の発生割合は、蛍光灯の区が最も高く

約 8 割であった。今回の実験では、LED 光に比べ、慣行の栽培方法である蛍光灯での光環境の方が、収量が多く、サイズの大きいものの割合も高いという結果となった。

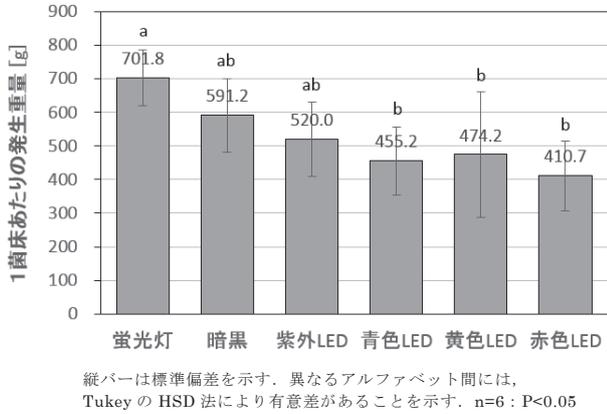


図 1 光環境が子実体収量に及ぼす影響

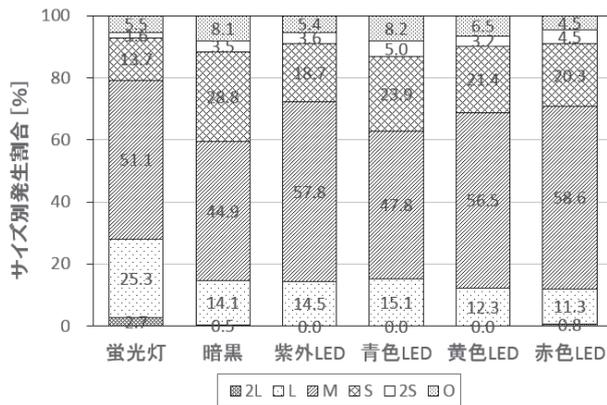


図 2 光環境が子実体サイズに及ぼす影響

収穫した子実体の柄の長さを計測した結果(平均)を図 3 に示した。赤色 LED, 暗黒, 黄色 LED の区では他の 3 つの区に比べ特に長くなるという結果が得られた。

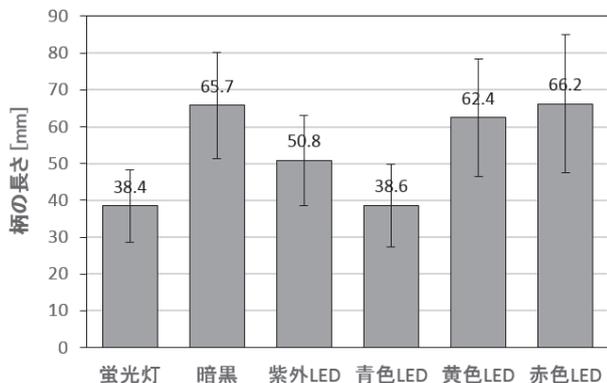


図 3 光環境が柄の長さに及ぼす影響

2) 傘の色彩

図 4 に試験区ごとの子実体の色彩 ($L^*a^*b^*$) を示した。暗黒, 赤色 LED, 黄色 LED の区では, 明度を表す L^* 値, 色度 (黄~青) を表す b^* 値が, 他の区に比べ特に高くなる結果を示し, いずれも色の薄い白っぽい傘となる傾向が見られた。また, 前述したとおり同試験区では柄が長くなる傾向を示しており, 傘の色彩と柄の長さには高い相関性があることが示された。

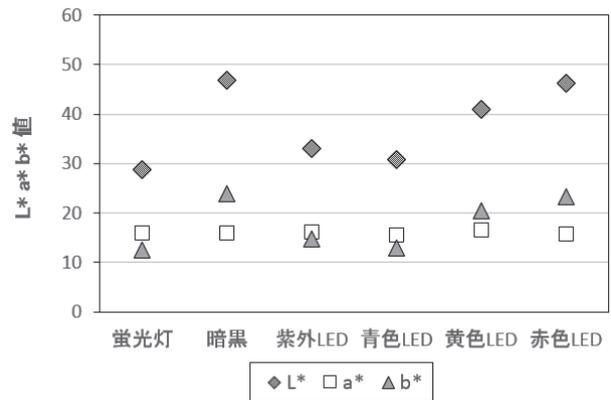


図 4 光環境が傘の色彩に及ぼす影響

3-2 子実体の遊離アミノ酸含量に及ぼす影響

収穫した子実体の抽出液から測定した全遊離アミノ酸含量を図 5 に示した。全遊離アミノ酸含量はほぼ同程度となっており, 今回の分析の結果からは光環境の違いによるアミノ酸含量への影響は確認されなかった。

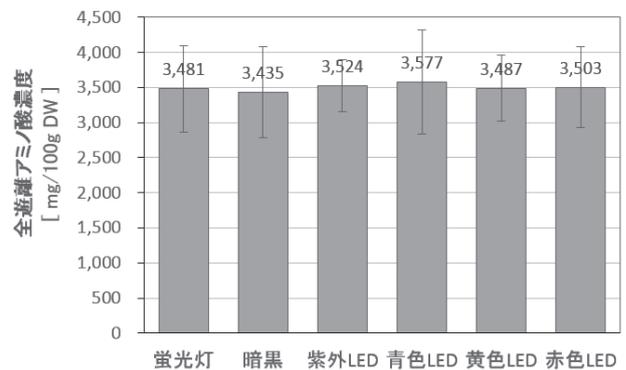


図 5 光環境が全遊離アミノ酸含量に及ぼす影響

3-3 考察

1) 収量・大きさ

子実体の収量や大きさ等については, 慣行の栽培方法である蛍光灯の光環境で, 収量が多く, サイズ

の大きいものの割合も高いという結果となり、LED 光または発光波長の違いによる優位性を見出すには至っていない。青色光受容体の性質から、青色 LED の区は蛍光灯の区と同程度の結果を想定したが、蛍光灯に劣る結果となった。また、子実体形成の制御に必要な光刺激のない暗黒の区においてもある程度の収量があった。これらの結果を踏まえると、厳密な遮光性、遮光シートでの区画による空気循環の差や室内加湿制御の際に散水ミストが子実体に直接散布されるか否かの違い、熱源となる LED 装置を置くことによる区画内雰囲気への影響など、試験区の環境設定上の何らかの要因が実験の結果に影響を与えた可能性が考えられる。精度の高い実験結果を得るためには、試験区内の光環境以外の環境設定を同条件に整えることが重要であり、区画の方法など試験区設定の改善であると考えられる。また、今回は 1 パターンの光強度で実験を行ったが、光強度の違いによる影響についても調査する必要がある。

2) 傘の色彩

傘の色彩に関しては、蛍光灯、青色 LED、紫外 LED の区（グループ 1 とする）で濃い褐色となるのに対し、暗黒、赤色 LED、黄色 LED の区（グループ 2 とする）では、色づきの薄い白っぽくなる傾向が顕著であった。担子菌の光形態形成には、近紫外から青色領域の光が有効であり、原基形成や子実体の傘の分化には、330~520 nm の領域の波長の光が作用するものが多いとされている²⁾。また、キノコの子実体形成の制御に強く影響する青色光を最初にシグナルとして受け取る生体内分子は、補酵素である発色団を結合した青色光受容体と呼ばれる一連のタンパク質であるとされている³⁾。このことから、子実体形成の制御に作用する 330~520 nm の波長域に含まれる主波長を持つ青色 LED、紫外 LED の光では、青色光受容体の反応の強さが濃い着色にも作用し、逆に、この波長領域にエネルギーを持たないグループ 2 では、青色光受容体の反応が弱いため着色が弱くなったものと考えられる。なお、蛍光灯は、青色、緑色、赤色の 3 つの波長域に狭帯域のエネルギーを持つスペクトルを示すが、このスペクトル

中の青色のエネルギー（蛍光灯区のスペクトル計測で 440 nm 付近にピークを持つエネルギーがあることを確認）に青色光受容体が反応し、青色 LED 区と同じような色づきとなったと考えられる。また、着色の弱かったグループ 2 では、柄が長くなる傾向も示された。これらの結果から、子実体発生時の光環境を制御することで、傘の色の濃淡や形状等、シイタケの形質を制御できる可能性があることが示された。

4 まとめ

発生段階での光環境の違いがシイタケの子実体発生量や形質等にどのような影響を及ぼすのか調査するため栽培実験を行った。その結果、青色に近い波長領域の光環境と、赤色および黄色の光環境とでは、傘の色の濃淡、柄の長さ等性質の異なる子実体となることを確認した。このことから、子実体発生時の光環境を制御することで、子実体の形質を制御できる可能性があることが分かった。

生産経費の削減や生産効率の向上、生産物の高付加価値化は、菌床シイタケの生産現場における重要な課題であり、この課題を解決するため、LED を活用した新たな栽培技術の確立に向け、今後も実験方法に改善を加えながら、さらに研究を深めていく予定である。

5 謝辞

本研究の一部は、宮崎県企業局の平成 26~27 年度試験研究機関連携推進事業の支援を得て行われた。記して謝意を表す。

6 参考文献

- 1) 阿部正範, 発光ダイオード照射がシイタケ菌糸体の生長と子実体収量に及ぼす影響: 日本きのこ学会誌, **15**, 103-108 (2007)
- 2) 古川久彦(編): きのこ学, 共立出版, 89-92 (1992)
- 3) 宮崎安将, “第 1 章 生物と光環境 5.キノコ”, 後藤英司編: 人工光源の農林水産分野への応用, 農業電化協会, 30-34 (2010)

独立電源システムの信頼性向上に関する研究 ～太陽電池を用いた独立電源システムにおける EDLC 利活用の基礎検討～

鳥原 亮*¹・山下 一男*¹

Study on Reliability Improvement of the Independent Power Supply System
～Basic examination about the profit inflection of EDLC in
independent power supply using solar cell battery～

Ryo TORIHARA and Kazuo YAMASHITA

太陽電池と鉛蓄電池を用いた独立電源システムにおいて、鉛蓄電池の充電は日射に依存する。このため、昼夜の充放電を繰り返すことに加え、日射の急変動などによる充電電力の不安定な供給が鉛蓄電池の劣化を促進させる懸念がある。本研究では、曇天時などの日射が急変動するような状況において、鉛蓄電池への充電電力の急変動を低減させるため、EDLC モジュールを組み込んだ充放電システムを構築し、鉛蓄電池への充電電力の変動抑制効果の有無を検証した。結果として、日射の急変動における鉛蓄電池への充電電力の変化は EDLC モジュールにより低減できることが確認され、鉛蓄電池の劣化を低減できる可能性が示唆された。

キーワード：独立電源システム，EDLC，太陽電池

1 はじめに

太陽光発電は、化石燃料や原子力によるエネルギー生成の代替方式として期待されている再生可能エネルギーの一つであり、平成 24 年度の固定価格買取制度（FIT 法）の施行以来、本県においても太陽光発電所の導入が加速している。また、太陽電池は、独立型電源として、商用電源の整備されていない地域への導入や災害時の非常用電源としても活用されている。しかしながら、太陽電池を用いた独立電源は、受光面へ一時的に影がかかる場合や、曇天が続く場合など、外的要因によって発電が安定しないという欠点があり、商用電源と比較して電源の安定供給という点では信頼性が低い。そのため、図 1 に示すように、負荷に対してやや大きい出力の太陽電池を用いて、発電の一部を蓄電池に充電するシステムが一般的である。このようなシステムにおいては、日射の変動が蓄電池への充電にも影響を与え、例えば図 2 のような日射強度変化の激しい薄曇りの日の日射状況においては、蓄電池への充電電力の変動

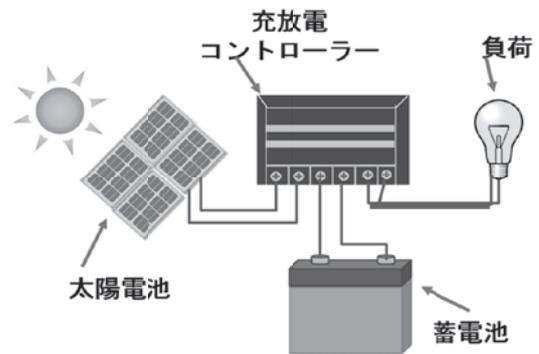


図 1 太陽電池を用いた一般的な独立電源システムの概要

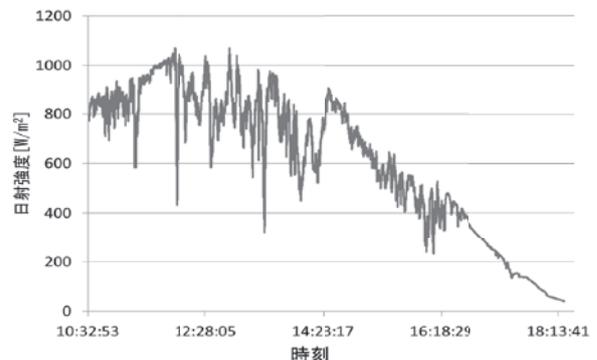


図 2 薄曇りの日における日射強度変化の例

* 1 機械電子部

も大きくなる．このような充電電力の大きな変動は蓄電池にとってストレスとなり，劣化の要因となることが知られている¹⁾．

本研究では，太陽電池を用いた独立電源システムにおいて，蓄電池への充電電力の急変動を抑制することを目的とし，電気二重層キャパシタ（以下，EDLC：Electric Double layer Capacitor）を組み込んだ独立電源システムを構築し，蓄電池に対する充電電力の平滑化効果について検証したので報告する．

2 実験方法

2-1 実験システムの概要

EDLC とは，電極表面のイオンの脱着により電気二重層を形成する物理現象を利用した蓄電材料であり，鉛蓄電池などの二次電池と比べて出力密度が高く，大電流での充放電が可能であることに加え，充放電サイクルによる劣化が極めて少ないという特徴がある²⁾．この EDLC を複数組み合わせたモジュールを図 1 の回路の太陽電池とコントローラーの間に挿入し，太陽電池からの不安定な入力電力を EDLC モジュールで一度受け止めることで，蓄電池側の回路における電力変動を低減させることを目的とし，制御回路を構築した．図 3 に実験システムの概要図，表 1 に太陽電池モジュール，鉛蓄電池および EDLC モジュールの仕様を示す．

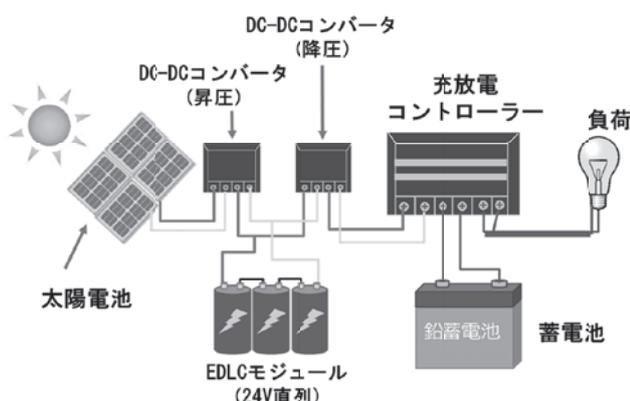


図 3 EDLC を用いた実験システムの概要

検討したシステムでは，DC12V の鉛蓄電池への充電を考慮し，EDLC モジュールは 12V より高い電圧領域で充放電させるため，EDLC モジュールを 2

2 台直列接続し，許容電圧 30V として用いた．

表 1 実験システムの仕様

太陽電池モジュール (SunLink(株), DS-050-12)	
種類	多結晶シリコン
公称最大出力	50 W
公称開放電圧 V_{oc}	22.0 V
公称短絡電流 I_{sc}	3.17 A
公称最大出力動作電圧 V_{pm}	17.5 V
公称最大出力動作電流 I_{pm}	2.86 A
鉛蓄電池(Long 社, WP-18-12I)	
電池電圧	12V
電流容量	18Ah(20 時間率)
EDLC モジュール (日本ケミコン(株) MDLE15R0V116FB0) 2 直列	
合成静電容量	58 F
最大許容電圧	30V

太陽電池モジュールから EDLC モジュールへの充電電圧は 0V から 22V の範囲であるため，DC-DC コンバータを挿入し，24V まで昇圧して用いることとした．このコンバータ部は，最大出力点を正確に追従する機能は有しておらず，全体の効率については，厳密には考慮していない³⁾．また，EDLC モジュールから充放電コントローラーまでは，DC14～16V 程度に降圧して供給することとした．

2-2 充放電電力平滑化の検証実験

図 4 に実験装置の外観を示す．中央のボックスが EDLC モジュールを用いた充放電制御部で，左側のボックスには蓄電池および計器類を納めた．右側のボックスには，将来的に長期的な充放電効率の比較等を検証することを想定し，EDLC モジュール非搭載型の独立電源システムを設けた．また，負荷を制御するタイマー回路を設けた．

EDLC モジュールおよび鉛蓄電池の充放電時における電流・電圧を計測するため，複数回路の電流を同時に計測できる非接触式電流計（県内企業との共同開発品）を各ケーブルに取り付け，接触式の電圧ロガー（日置電機(株), LR5043）を各端子に接続し，

日射変動の激しい日における電流・電圧の変動を1分おきに計測した。

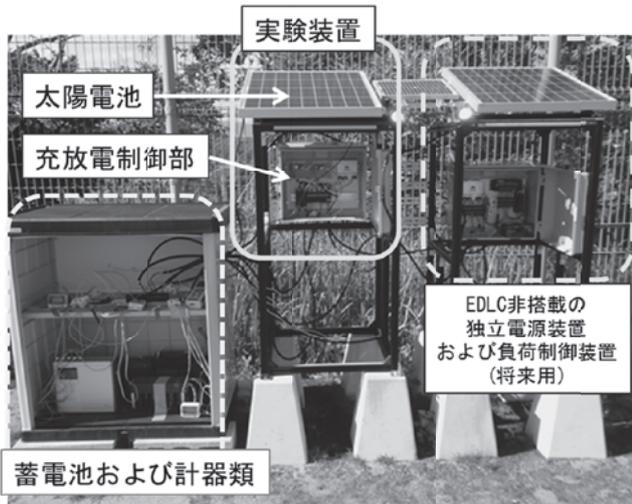


図4 実験装置の外観

3 結果および考察

3-1 電力平滑化の効果

図4の装置を用いて、薄曇りの日におけるEDLCモジュールおよび鉛蓄電池の充放電状況を計測した。図5に測定結果、図6に測定結果を部分的に拡大したグラフを示す。グラフの横軸は測定時の時刻、縦軸は電力である。

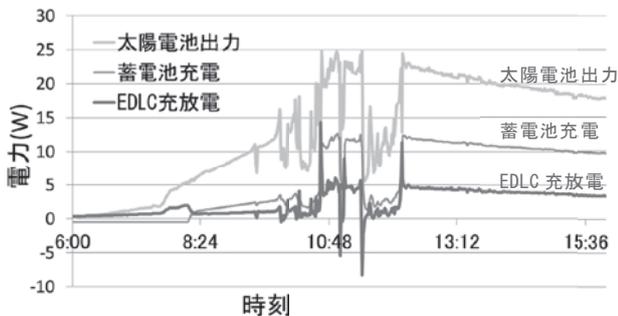


図5 薄曇り時の実験装置の充放電状況

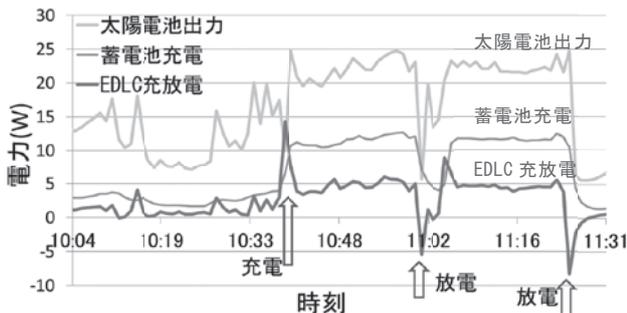


図6 充放電状況(図5の一部拡大)

測定当日は、午前中に雲が広がっており、日射が頻繁に遮られる状況であった。このため、太陽電池の出力は、日射の変動により大きく変動していることが分かる。充放電の状況においても、太陽電池出力の急激な増加や減少に追従するように、EDLCモジュールおよび鉛蓄電池への電力変動が生じている。EDLCモジュールと鉛蓄電池の充放電状況を比較すると、例えば図6の矢印のポイントにあるような太陽電池出力の急激な増減において、EDLCモジュールの電力変動の方が鉛蓄電池よりも大きく、太陽電池出力が急激に減少する場合においては、EDLCの電力は負に転じており、EDLCから放電した電力が鉛蓄電池への充電に寄与していることがわかる。このことから、EDLCモジュールは太陽電池からの変動の激しい充電電力をある程度緩和して鉛蓄電池へ供給できていることが確認できる。また、実験時におけるEDLCモジュールと鉛蓄電池の充電容量の比は約3:7であり、充電電力の平滑化という目的に加え、余剰電力をEDLCモジュールへ蓄電する状況となった。このことは、EDLCモジュールと鉛蓄電池の容量のバランスを変えることにより、入出力の変動の激しい独立電源システム向けの蓄電設備として構築できる可能性を示唆している。

4 まとめ

本研究では、太陽電池を用いた独立電源システムにおいて不安定な入力電力を平滑化し、蓄電池への充電電力の変動を低減させることを目的として、EDLCモジュールを組み込んだ独立電源システムの構築および蓄電池に対する充電電力の平滑化効果を検証した。結果として、EDLCモジュールを組み込むことで鉛蓄電池への充電電力の変動は低減できることが確認された。これにより充電電力の急変動によるストレスが低減され、鉛蓄電池の延命化につながることが期待される。今後は、太陽電池を用いた独立電源システムにおいて、EDLCと二次電池を併用した蓄電設備による充放電状況を長期間測定しながら、従来システムとの充放電効率の比較を検証していく予定である。

EDLCに関するPCT国際特許出願の出願件数は、わが国が最も多く、国内の政策としても、EDLCの

応用利用に関する研究が国家プロジェクトとして継続的に挙げられている⁴⁾ことから、今後、国内外において市場が拡大していくと見込まれる。しかしながら、既存の鉛蓄電池やリチウムイオン蓄電池と比較して、エネルギー密度が小さく、コストがかかるという欠点があり、活用の場が広がっていない現状がある。これらの課題解決の一つとして、焼酎粕などの産業廃棄物を活用した EDLC モジュールの開発などの研究⁵⁾が進んでおり、EDLC の低コスト化が期待されている。

EDLC モジュールの低コスト化が進めば、現在、商用電源への売電を目的とする太陽光発電システムや、ソーラーシェアリングにも応用できる可能性が広がり、将来的に予想される太陽光発電電力の自家消費の時代に対応できる蓄電システムとして多く採用される可能性がある。

本研究は信頼性の高い充放電システムを確立するための基礎検討の段階ではあるが、今後研究を継続し、あらゆる地域に適応できる高信頼性の独立型電

源システムの構築に貢献していきたい。

5 謝辞

本研究の一部は、宮崎県産業振興機構の産学官共同研究開発支援事業(F/S)および宮崎県企業局の平成 27～28 年度試験研究機関連携推進事業の支援を得て行われた。記して謝意を表す。

6 参考文献

- 1) 日立化成テクニカルレポート, 57, 8-10(2014)
- 2) 電気二重層コンデンサの最新技術動向, web サイト <http://www.nichicon.co.jp/lib/lib27.html>
- 3) 岡村 勉夫: 電気二重層キャパシタと蓄電システム(第 3 版), 日刊工業新聞社, 184-186(2005)
- 4) 平成 27 年度 特許出願技術動向調査報告書(概要) 電気化学キャパシタ, 特許庁, 9-15(2016)
- 5) 田島大輔, 福間眞澄, 熊谷誠治: 焼酎粕を再利用した電気二重層キャパシタ, 平成 28 年電気学会全国大会(東北大学), 2-078, 95(2016)

褥瘡等を早期発見するための生体情報検出に関する研究*

布施 泰史*¹・小田 誠*²・早水 昭二*¹

Study on Detection Method of Biological Information for discovering Pressure Ulcers at Early Stage

Yasufumi FUSE, Makoto ODA and Shoji HAYAMIZU

介護施設や病院などの現場では、寝たきりなどの状態にある人の褥瘡（床ずれ）が問題となっている。褥瘡の発生メカニズムは、骨突出部の血流障害や皮膚の湿潤などが要因と言われており、体の接触面から受ける圧力や摩擦力に影響を受ける。また、褥瘡の判別は炎症部位を外観で検査する手法のみであり、計測機器などによる評価技術が確立していないなど課題もある。そこで今回、計測手法の確立を目的に褥瘡患者での臨床試験を実施する前の段階として、健常者を研究対象者にアルコールパッチテストにより前腕に擬似発赤を発症させ、近赤外光を用いて皮膚近傍の血中酸素化ヘモグロビン(Oxy-Hb)濃度を測定した。結果、皮膚表層部の発赤発現においてヘモグロビン濃度差検出が可能であることを見出した。また、被験者の体型別（BMI 分類）によるヘモグロビン濃度差検出においても被験者ごとの特徴を判別できることを確認した。

キーワード：褥瘡、光トポグラフィ、酸素化ヘモグロビン、BMI

1 はじめに

褥瘡は、治療が困難で再発しやすい創傷であり、脊髄損傷者、車いす利用者、寝たきりの患者に多く発症する。褥瘡の判別は、ガラス板や指で発赤部を圧迫し赤い色調が退色するかどうかにより褥瘡度を判定するが、外観による検査であるため信頼性は低いとされている。今後、国内の寝たきり高齢者数は、ますます増加することが予想されることから褥瘡の治療時間の短縮、看護者の負担軽減並びに医療費用の軽減が可能になる早期発見技術の確立は、非常に重要な必要要素である。

そこで本研究では、光トポグラフィ法により生体透過性の高い近赤外光を用いて、擬似的に発症させた発赤に対して光を照射し、血中ヘモグロビン濃度差検出が可能であるか実験を行った。

本報では、人を対象とした研究であることから倫理的配慮に基づいた倫理審査委員会の設置、アルコールパッチテスト¹⁾を用いた研究対象者の選定についても実験結果とあわせて報告する。

なお、本研究は、事前に「人を対象とする研究のための倫理規程」および「倫理審査委員会設置要領」に基づき、倫理審査委員会で研究実施計画が承認された。被験者には、本研究内容と実験手順に関するインフォームド・コンセントを行い、同意を得た上で実験を行った。

2 実験方法

本研究は、褥瘡患者での臨床試験を実施する前の段階として、研究手法の有効性を当センター職員により調べるものであり、実現の可能性を試す研究である。

2-1 研究対象者（被験者）の概要

研究対象者は、工業技術センターおよび食品開発センター職員（健常者）とし、褥瘡患者に発症する発赤と類似の症状を研究対象者が発症するようにアルコールパッチテストを試み、発赤を発症した研究対象者を選抜し生体特性測定を実施した。生体特性測定は、光トポグラフィ法を用いた検出手法で行った。研究期間は、平成 28 年 10 月 14 日から平成 29 年 3 月 31 日である。

* 「医療・福祉技術に関する研究開発」第 1 報

*1 機械電子部

*2 機械電子部（現 宮崎県総合政策部情報政策課）

(1) アルコールパッチテストによる選定

本研究の生体特性を測定する研究対象者数は、これまでの福祉用具評価実験や光トポグラフィを活用した文献等を参考とし 10 名以上とした。

今回の実験は、アルコールパッチテストで陽性反応（発赤発現）が認められた被験者が研究対象者となることから、当初の総研究対象者は 40 名とし、陽性反応が認められた被験者 10 名を生体特性測定の研究対象者とした。

アルコールパッチテストによる選定を行った理由は、アルコールを含む皮膚刺激による炎症は、初期の褥瘡を発症した状態（発赤）の人体皮膚の生体特性と類似しているとの先行文献²⁾を参考とした。皮膚刺激は 7 分間で試験に要する時間は、1 人あたり約 30 分とした。

研究対象者選定までの流れを図 1 に示す。

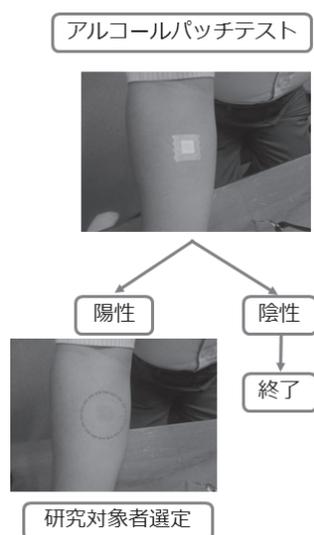


図 1 研究対象者の選定

(2) 研究対象者

アルコールパッチテストの結果により、研究対象者 10 名（男性のみ、年齢:37~60 歳、身長:1.62~1.79m、体重:51~95kg、BMI:18.3~30.5kg/m²）で下記実験を行った。

2-2 光トポグラフィ法による生体特性測定

今回、発赤部位の血流特性について検証するため光トポグラフィ法を用いて、健常部位と発赤発症部位に近赤外光を照射し、測定部位間の血流特性を検出した。

光トポグラフィ法とは、近赤外分光法（NIRS: Near Infrared Spectroscopy）を用いた測定で光ファイバーケーブルの先端を測定部に接触

させ、生体透過性が高い近赤外光を人体に照射し、血中のヘモグロビン濃度変化を計測する手法である。本研究では前腕の発赤部位にプローブを取り付け、近赤外光をアルコールパッチテスト実験後の皮膚発赤部位に照射しその特性を確かめた。

(1) 実験装置の構成と計測原理

近赤外光を照射する実験装置には、光トポグラフィ装置（日立製作所製、OT-R40）を用いた。同装置は、脳活動度を検証する装置として知られており、本実験では比較的浅い皮膚の前腕内側を測定対象としたことから光強度の出力を最小の Low レベルとした。図 2 は、光照射による計測原理である。近赤外光は短波長（695nm/830nm）で光照射部から照射された光が血中のヘモグロビンに吸収され、反射された光の一部が光検出部に戻ってくる。すなわち血流の増加によって酸素消費が増え血中の酸素化ヘモグロビン（Oxy-Hb）濃度が上昇する。実験では、この Oxy-Hb 濃度変化を検出した。

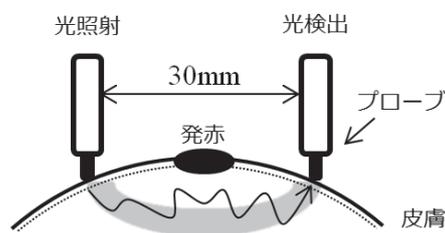


図 2 光照射による計測原理

(2) 計測方法

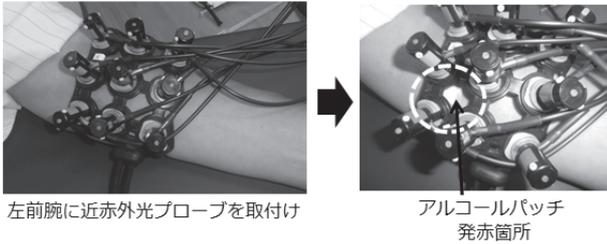
計測はまず、発赤発症の有無により Oxy-Hb 濃度差があるかどうかを確認するため、研究対象者 1 名の発赤部位（左腕）と比較部位（右腕）で実験した。つぎに、研究対象者 10 名の発赤部位について Oxy-Hb 濃度を計測し、BMI（Body Mass Index）分類における特徴を検証した。実験では、図 3 に示す近赤外光プローブを取り付け図 4 のプローブチャンネル配置にしたがい合計 12 チャンネルの Oxy-Hb 濃度を計測した。

(3) 計測手順

図 5 の計測手順にしたがって、光トポグラフィ装置の近赤外光を照射し、1 分間の Rest（安静）状態後、図 4 の 1 ch と 6 ch 間にアルコールパッチテスト（Task）用の試験布を貼付し 7 分

間が経過するまで安静にした。経過後、試験布を外し発赤発現を確認した状態で継続測定し、開始から 17 分後実験を終了とした。

■ 光照射・検出プローブの装着



左前腕に近赤外光プローブを取付け

アルコールパッチ
発赤箇所

■ 前腕の発赤箇所と測定エリア

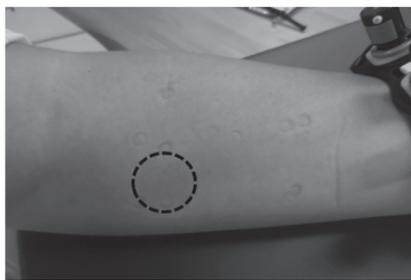
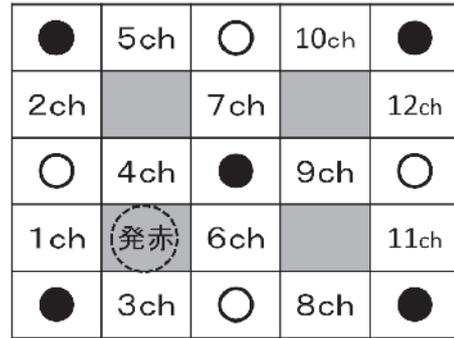
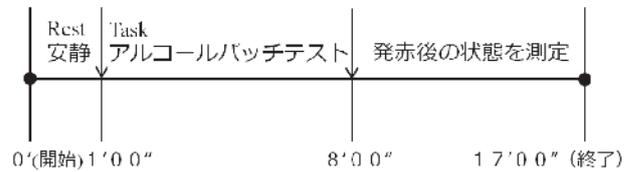


図3 光照射・検出プローブ装着と前腕の発赤箇所



●: 光照射、○: 光検出、○: 発赤箇所

図4 プローブチャンネル配置図



実験は、1分間のRest（安静）状態後、アルコールパッチテスト（Task）を行った。7分経過後、発赤状態を測定。

図5 計測手順

3 結果および考察

3-1 発赤発症の有無による Oxy-Hb 濃度

光トポグラフィ装置を用いて、発赤発症部位（左腕）と比較部位（右腕）に近赤外光を照射し、測定部位間の Oxy-Hb の濃度変化について

研究対象者 1 名の結果を図 6 に示す。アルコールパッチテスト (Task) によって Oxy-Hb が増加し濃度差が顕著に現れた。

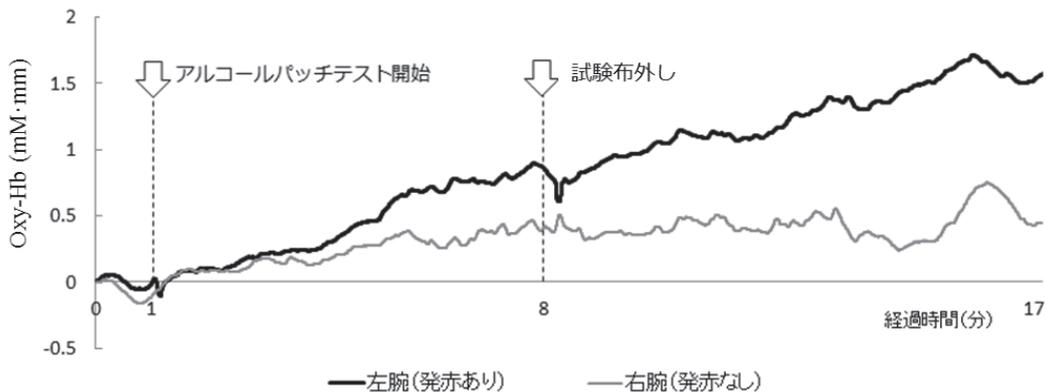


図6 前腕発赤（あり・なし）別の酸素化ヘモグロビン(Oxy-Hb)の濃度変化

BMI (kg/m ²)	平均値	最大値	n=10
痩せ (18.5 未満)	1.19	2.83	1
標準 (18.5~25.0)	0.39	2.02	5
肥満 (25.0 以上)	0.39	1.98	4

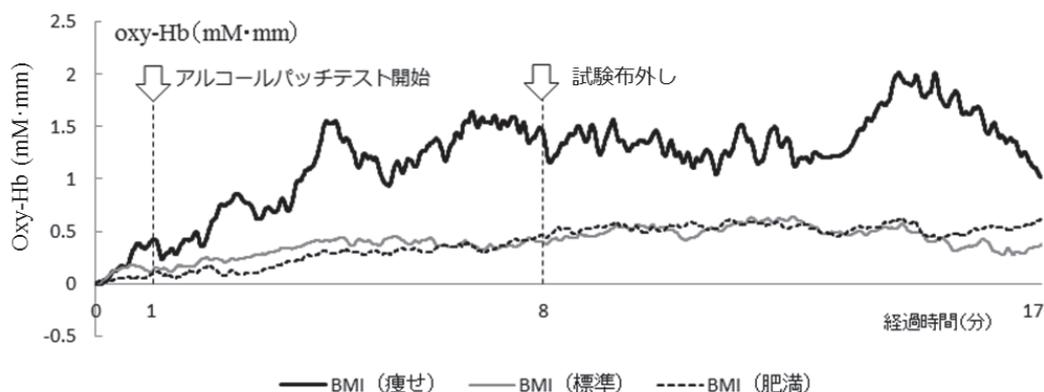


図7 BMI 分類別の酸素化ヘモグロビン(Oxy-Hb)の濃度変化

3-2 BMI 分類における特徴

研究対象者 10 名の Oxy-Hb 濃度（平均値，最大値）について BMI（Body Mass Index）体型別に分類した結果を表 1 と図 7 に示す。BMI は，体重と身長の数値を用いて痩せや肥満を知る国際的な指標である。

図 7 より，痩せ型ではアルコールパッチテスト開始約 2 分後から徐々に Oxy-Hb 濃度が増加し，試験布を外した後も高濃度状態を維持していることが確認された。この結果に対して標準型および肥満型では，全体的に Oxy-Hb 濃度はフラットで急激な増加もなく，発赤発現後であっても痩せ型の 3 分の 1 程度の Oxy-Hb 濃度であった。

井出ら³⁾の実験によると皮膚の表面から近赤外光を照射した場合，生体組織の特徴として脂肪層が薄いと筋肉での光の吸収が多く皮膚表面での光検出は減少し，逆に脂肪層が厚いと筋肉での吸収が少なくなり皮膚表面での光検出が増加すると報告されている。よって，筋肉は光を吸収し脂肪は散乱することになる。筆者らの実験においても BMI 分類の痩せ型は，Oxy-Hb 濃度が高いことからより多くの光を吸収しやすい体質であることが示唆された。さらに，標準型や肥満型は，痩せ型

に比べ Oxy-Hb 濃度が低いことから脂肪層が厚く光を吸収しにくい体質であることが明らかになった。

4 まとめ

今回の実験では，褥瘡患者での臨床試験を実施する前の段階とし，健常者を研究対象者にアルコールパッチテストにより前腕に擬似発赤を発症させ，近赤外光を用いて皮膚近傍の Oxy-Hb 濃度を測定した。結果，近赤外光を用いることで皮膚発赤前後の Oxy-Hb 濃度差を検出することが可能であることと，体型によって光の吸収量に違いがあることを示した。

今後は，他の手法も取り入れながら医療機関等の協力を得て，褥瘡等を早期発見するための最適な生体計測手法に取り組む予定である。

5 参考文献

- 1) 樋口進，アルコール臨床研究のフロントライン，厚健出版(1996)
- 2) 浦滝真理子，太田裕治：生活工学研究，4-2，254-257(2002)
- 3) 井出和宏ら：近赤外光を用いた皮下脂肪厚みの測定法，パナソニック電工技報，58，40-44(2010)

キンカン新品種「宮崎夢丸」のピューレ加工に関する研究*

三輪 華織*¹・福山 明子*²・山田 和史*¹

Development of Method for Puree of Kumquat ‘Miyazaki Yumemaru’

Kaori MIWA, Akiko FUKUYAMA and Kazufumi YAMADA

キンカンは当県の特産カンキツのひとつである。2010 年に品種登録されたキンカン新品種「宮崎夢丸」は種なしの品種特性を有していることから、生食用だけでなく加工原料としての活用が期待されている。本研究では、「宮崎夢丸」の加工適性調査の一環として、ピューレへの加工を検討した。その結果、酵素処理を行うことでピューレの歩留まりおよび製造における作業性の向上や、食味の変化による嗜好性の向上が認められ、食品素材としての付加価値の向上につながることが示唆された。

キーワード：キンカン、宮崎夢丸、酵素処理、加工、ピューレ

1 はじめに

キンカンは当県において日向夏と並ぶ特産カンキツのひとつであり、全国一の栽培面積および生産量を有している。施設栽培のキンカンは当県のブランド品目「完熟きんかん‘たまたま’」として流通しており、市場での評価も高い。

1987 年から県総合農業試験場は完全種無しキンカンの育成に取り組み、2010 年に「宮崎夢丸(以下、夢丸)」を品種登録した。この品種についての果実品質および成分については既に報告されている¹⁾が、加工適性についてはまだ把握されていない。夢丸は種なしの品種特性を有しており、加工時の種取り作業時間の短縮が見込めることから、加工原料として期待できる²⁾。本研究では、様々な加工品への汎用性が高い一次加工品として、夢丸のピューレの製造方法を確立するための検討を行ったので報告する。

2 実験方法

2-1 試料

露地栽培された夢丸の M サイズ果(収穫期：平成

* 新品種キンカン「宮崎夢丸」および「宮崎王丸」の収穫時期別成分変化(第 2 報)

* 1 食品開発部

* 2 食品開発部(退職)

28 年 12 月下旬)を供試試料とした。果実は洗浄後冷凍保存し、試験に供した。

2-2 酵素処理試験(液化率による評価)

農産物を酵素処理し、食品素材を開発する研究は様々な品目で行われている。キンカンにおいても、酵素製剤の利用は有用である。以前、我々はキンカンペクチナーゼ製剤であるスクラーゼ N 0.1%で処理することでピューレ製造における歩留まりが向上したことを報告した²⁾。加工品製造においてはコストを抑えることも重要であることから、ピューレ歩留まりの向上に適する酵素製剤およびその濃度を把握するため、酵素製剤の種類や組合せを変えた処理による液化率を調べた。液化処理の手法および計算方法は本多³⁾らの方法に準じた。

本研究において使用した 4 種類の酵素製剤を表 1 に示した。

表 1 実験に使用した酵素製剤

酵素製剤名	種類	製造会社
スクラーゼ N	ペクチナーゼ	三菱ケミカルフーズ(株)
コクラーゼ	アミラーゼ	
スクラーゼ X	ヘミセルラーゼ	
アクレモセルラーゼ KM	セルラーゼ	協和化成(株)

なお、酵素製剤は表 2 の組合せおよび濃度で使用した。比較のため、酵素製剤を添加せずに同様の操

作を行う「無処理区」とし、既報のスクラーゼ N 0.1% を添加する試験区を「対照区」とした。

冷凍果実を流水にて解凍後、フードプロセッサーで破碎し、50 ml チューブに 20.0 g 秤量した。秤量した試料は、酵素添加前にウォーターバスで 50℃ に加温した。蒸留水に溶かした酵素製剤 200 μl を試料に添加し、葉さじで混和したのち、50℃ に設定したウォーターバスで 150 分間酵素反応を行った。酵素反応を促すため、反応開始から 30 分、60 分および 120 分の時点でチューブを 10 秒間激しく振とうした。反応終了後、チューブを沸騰水中で 15 分加熱し、酵素を失活させた。10 ml の蒸留水を加え、十分振とうし、3000 rpm で 5 分間遠心分離後、上清を取り除く操作を 2 回行った後、沈澱物を桐山ロート内のろ紙 (No.5A 桐山ロート用ろ紙 (直径 60 mm)) に載せ、吸引ろ過を 30 分行った。吸引ろ過後、残った試料をろ紙ごと重量を測定した。酵素処理前重量に対する酵素処理前後の減少重量の比率を液化率とした。

表 2 実験に使用した酵素製剤の組合せと添加濃度

試験区	①	②
1	無処理区 (酵素添加なし)	—
2	対照区 スクラーゼ N 0.1%	—
3	コクラーゼ 0.01%	スクラーゼ N 0.01%
4		スクラーゼ N 0.03%
5		スクラーゼ N 0.05%
6	コクラーゼ 0.03%	スクラーゼ N 0.01%
7		スクラーゼ N 0.03%
8		スクラーゼ N 0.05%
9	コクラーゼ 0.05%	スクラーゼ N 0.01%
10		スクラーゼ N 0.03%
11		スクラーゼ N 0.05%
12	アクレモセルラーゼ [®] KM 0.03%	—
13	アクレモセルラーゼ [®] KM 0.05%	—
14	アクレモセルラーゼ [®] KM 0.10%	—
15	スクラーゼ X 0.01%	—
16	スクラーゼ X 0.03%	—
17	スクラーゼ X 0.05%	—
18	アクレモセルラーゼ [®] KM 0.01%	スクラーゼ N 0.01%
19		スクラーゼ N 0.03%
20		スクラーゼ N 0.05%
21	アクレモセルラーゼ [®] KM 0.03%	スクラーゼ N 0.01%
22		スクラーゼ N 0.03%
23		スクラーゼ N 0.05%
24	アクレモセルラーゼ [®] KM 0.05%	スクラーゼ N 0.01%
25		スクラーゼ N 0.03%
26		スクラーゼ N 0.05%

2-3 工業的製造を目指したピューレ製造試験

2-2 で得られた液化率および酵素製剤コストを勘案し、表 3 に示した 4 つの酵素の組合せを選定した。

加えて酵素を添加しない区を設け、キンカンピューレの加工試験を行った。冷凍キンカンを流水で解凍し、90℃ 10 分間ブランピング後、流水で 1 分間冷却した。続いてフードプロセッサー (株式会社エフ・エム・アイ, R-8E) で 1 分間粉碎し、ナイロン袋に 500 g ずつ充填後、粉碎物が 50℃ になるよう湯浴で加温した。酵素を所定の濃度になるように添加し、密封してよく混和した。50℃ に設定した恒温器内で 150 分間酵素を作用させ、高速裏ごし機 (中井機械工業株式会社, はやごし君 20 番メッシュ) を使って裏ごしした後、ピューレの重量を計測し、酵素反応前の重量で除することでピューレの歩留まりを求めた。また、裏ごしに要した時間を計測した。

製造したピューレはトリプルナイロンに充填し、酵素失活を兼ねて加熱殺菌し、冷凍保存した。また、ピューレの pH を pH メーター (HORIBA, pH METER D-71) で測定した。あわせて、官能評価を行った。

3 結果および考察

3-1 酵素処理試験 (液化率による評価)

酵素を添加することでキンカン粉碎物が液化し、固形物の減少が確認できた (図 1)。



図 1 酵素処理試験における固形物量の変化
遠心分離後、上清を取り除いた状態
左：無処理区 右：スクラーゼ N 0.1%

いずれの区においても対照区と比べて液化率が向上した (図 2)。アクレモセルラーゼ KM 単体 (試験区 12~14) やアクレモセルラーゼ KM とスクラーゼ N の組合せ (18~26) では、濃度に比例して液化率が大きく向上した。一方、コクラーゼとスクラーゼ N の組合せ (3~11) およびスクラーゼ X (15~17) は、添加濃度を高くしても液化率の上昇は少なかった。

スクラーゼ N 0.1%添加区 (2) , アクレモセルラーゼ KM とスクラーゼ N 0.05%を組み合わせた添加区 (20, 23 および 26) では、液化率が 60% を超える結果が得られた。カンキツ類であるキンカンはペクチンを豊富に含んでおり、これにスクラーゼ N が作用することにより液化が進んだと考えられる。

これらの結果から、夢丸の液化に関しては、アクレモセルラーゼ KM とスクラーゼ N の併用による効果が最も高いと考えられた。また、コクラーゼとスクラーゼ N の併用は液化率と酵素濃度との相関が認められず、スクラーゼ X 単体での使用も液化への寄与は少ないと考えられた。

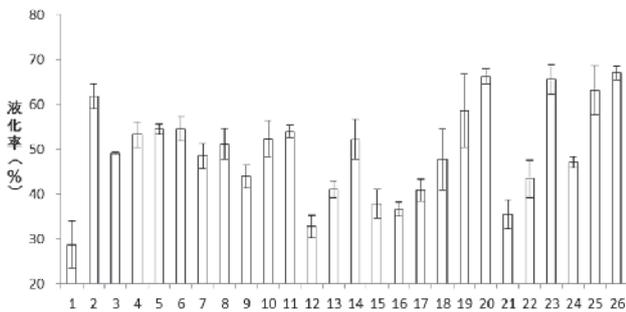


図2 宮崎夢丸の酵素処理による液化率
n=3, バーは平均値±標準偏差 試験区は表1と同じ

3-2 工業的製造を目指したピューレ製造試験

ピューレの製造試験結果を示した (表3)。

表3 酵素の添加濃度とピューレの歩留まりおよび性状

処理区	歩留まり (%)	所要時間 (min)	pH
① 無処理(酵素添加なし)	34.4	10.0	5.048
② スク N 0.1%	73.9	1.5	3.565
③ アク 0.03%+スク N0.05%	67.4	2.4	3.511
④ アク 0.03%+スク N0.05%	72.4	2.5	3.484
⑤ アク 0.05%+スク N0.03%	70.0	2.1	3.478

スク N: スクラーゼ N アク: アクレモセルラーゼ KM

酵素処理区 (処理区②~⑤) では無処理区 (①) と比べて、ピューレの歩留まりが倍以上となった。酵素処理区では、酵素がキンカン粉砕物に作用し、流動性が良くなっていたため、裏ごしの際にメッシュを通過しやすくなったことが要因と考えられる。実際、製造したピューレは無処理区の①を除いて流動性の高い液状となった。また、流動性が変化することで裏ごしにかかる時間も短縮され、作業性が向上した。

pH は、無処理区より酵素処理区のほうが低くなった。酵素処理区では共通してペクチナーゼ製剤を利用しており、その作用によってペクチンが分解されてガラツクロン酸となり、pH が低下したと推察された。

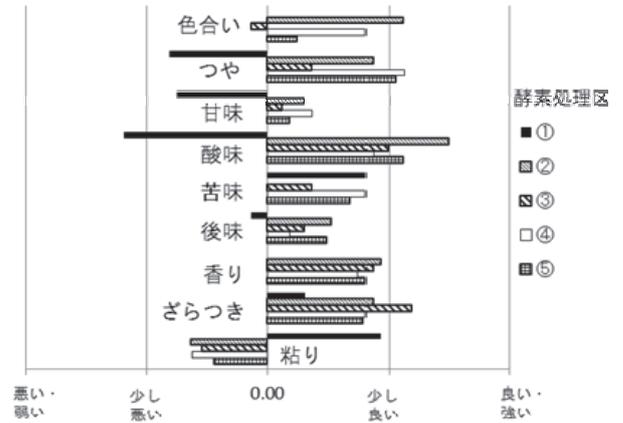


図3 宮崎夢丸のピューレの官能評価
n=16, 処理区は表3と同じ

ピューレの官能評価を行った結果を示した (図3)。酵素を添加することで、食感、味および香りに変化が生じることがわかった。また、使用する酵素製剤により、味に与える変化に違いが生じた。

「色合い」, 「つや」, 「ざらつき」および「粘り」の評価項目は、酵素処理の有無で大きく差が生じた。酵素処理によりキンカンの液化が進んでおり、これらの項目に大きく影響したと考えられる。また、「味」については特に酸味の変化が大きく、無処理区では弱かったが、酵素処理区では全て強くなっていったほか、甘味の評価も向上した。「香り」の評価項目についても酵素処理区で評価が向上した。カンキツの香りは、果皮の油胞に含まれる精油成分に起因することから⁴⁾、キンカンの組織が酵素により分解され、油胞から精油が流出したことで香りが発生したと考えられた。

また、官能評価に供したピューレの中で「最も好ましいもの」として、図4に示したとおり酵素処理区のピューレが多く選ばれた。酵素処理を用いたピューレ製造方法は、嗜好性の向上にもつながると考えられた。

4 まとめ

種なしキンカン「宮崎夢丸」における加工適性

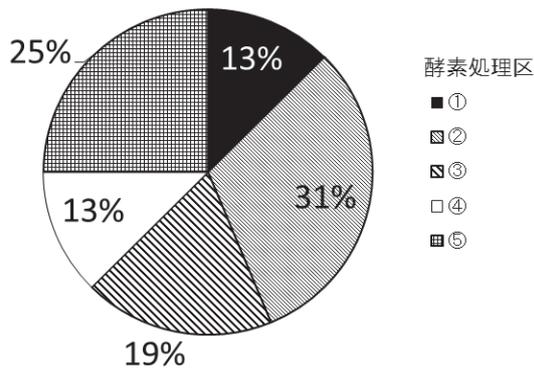


図4 宮崎夢丸のピューレの嗜好性評価
5種類のピューレの中で「最も好ましいもの」を選択
n=16, 処理区は表3と同じ

試験としてピューレ加工を検討した結果、以下の知見が得られた。

- 1) ピューレ加工の前処理方法として酵素処理試験をした結果、アクレモセルラーゼ KM とスクラーゼ N を合わせて利用することで液化率が高くなった。

- 2) 酵素処理を行うことで、ピューレの歩留まりや裏ごしの作業性が大きく向上した。
- 3) 酵素処理はピューレの性状、食味や食感などを変化させ、嗜好性を向上させた。
- 4) 酵素処理は、ピューレ製造の効率化に寄与でき、嗜好性も高めることからピューレの食品素材としての価値を高められると考えられた。

5 参考文献

- 1) 福山明子, 永山志穂, 佐野真実: 宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告, 59 27-31 (2014)
- 2) 福山明子, 永山志穂 ポスター発表「きんかん『宮崎夢丸』の品質特性と利用加工について」(2015)
- 3) 本多芳彦, 高橋陵, 木村亮介: 酪農学園大学紀要 自然科学編 37-1, 5-14(2012)
- 4) 伊藤三郎 編: 果実の科学, 朝倉書店, 91(1991)

県内で生産されているユズ果汁の成分分析

高橋 克嘉*¹・福山 明子*²・柚木崎 千鶴子*³・山田 和史*

Component Analysis of Yuzu Juice Produced in Miyazaki

Katsuyoshi TAKAHASHI, Akiko FUKUYAMA, Chizuko YUKIZAKI
and Kazuhumi YAMADA

宮崎県内の企業が生産しているユズ果汁製品（8 製品）の成分比較を行った。青ユズ果汁は、黄ユズと比較し糖濃度が低い値であったが、有機酸濃度は差がなかった。加熱殺菌された 1 製品については、酸化型ビタミン C の割合が高く、糖組成もショ糖の割合が低くなっており、加熱の影響が示唆された。フラボノイド類および香気成分には大きな差が見られた。これは、果皮の有無の影響および搾汁時の圧力の影響が考えられた。このことから、搾汁時の圧力を調整することで、ある程度果汁の成分を調整可能であると考えられた。

キーワード：ユズ，果汁，搾汁

1 はじめに

宮崎県は農林水産業が盛んであり、特にユズ（生産量全国 4 位）、日向夏（生産量全国 1 位）、へべス（本県特有の香酸柑橘）等の柑橘類の生産量が多い。これらの柑橘類は、加工用原料として用いられる割合が高いという特徴がある。日向夏はその 3 割が、ユズにおいてはその 9 割が加工用原料として使用される。

これらの柑橘類の加工は、主に果汁を取るための搾汁であるが、特にユズに関しては、その殆どが、県内各地 5 カ所にある中規模の搾汁メーカーにより加工されている。同じ宮崎県産のユズを原料としているが、その製品には若干の違いが見られる。これらユズ加工を行うメーカーを含む 10 社が当センターの呼びかけにより発足した「一次加工食品研究会」という勉強会に加入し、品質の向上や、商品開発に取り組もうとしている。今後、共同で事業を行って行くにあたり、各社のユズ果汁の成分特性などを把握するのは重要であると考えられる。

* 食品開発部

*1 食品開発部（現 資源環境部）

*2 食品開発部（退職）

*3 食品開発部（現 宮崎県食品・メディカル産業推進室）

そこで今回、各社が生産するユズ果汁の成分（糖、有機酸、ビタミン C、フラボノイド類、香気成分）の比較を行ったので報告する。

2 実験方法

2-1 試験試料

ユズ果汁を主力商品として販売している会員企業（5 社）から、各社が平成 24 年宮崎県産ユズを搾汁した製品（8 製品）を提供いただいた。搾汁は、各社とも装置のメーカーは違うが、すべてベルト式搾汁機により製造を行っていた。1 製品の原料が青ユズであり、2 製品が搾汁前にユズ表面を剥皮した後に搾汁を行ったものであった。また、1 製品が搾汁後、加熱殺菌・瓶充填を行い、常温で保存可能な製品であった。8 製品を表 1 に示す。果汁はすべて -20℃ で凍結保存し、随時解凍を行い分析に供した。

表 1 分析に用いたユズ果汁

	果実	状態	加熱	保存
①	黄ユズ	丸ごと	なし	冷凍
②	黄ユズ	皮なし	なし	冷凍
③	青ユズ	皮なし	なし	冷凍
④	黄ユズ	丸ごと	なし	冷凍
⑤	黄ユズ	丸ごと	なし	冷凍
⑥	黄ユズ	丸ごと	あり	常温
⑦	黄ユズ	丸ごと	なし	冷凍
⑧	黄ユズ	丸ごと	なし	冷凍

2-2 色彩測定

各果汁を測定用のセル（石英ガラスセル，光路長 10 mm）に一定量入れ分光測色計（日本電色工業（株）社製 SD6000）を用いて L*a*b*表色系により明度，色度を測定した。

2-3 濁度測定

各果汁を 40 倍に希釈した後，測定用のセル（石英ガラスセル，光路長 10 mm）に一定量入れ，分光光度計（日本分光（株）社製 V-560）を用いて 660nm における吸光度を測定した。

また，1.5 ml のマイクロチューブに各果汁を 1.5 ml 入れ，遠心分離（15000 rpm，10 min）後，分離した固形分を目視にて確認した。

2-4 Brix, pH, 酸度測定

Brix はポケット糖度計（（株）アタゴ社製 PAL-J）を用いて測定した。pH は，pH メーター（（株）堀場製作所社製 F-52）を用いて測定した。酸度は，水酸化ナトリウムによる中和滴定からクエン酸の量に換算し求めた。

2-4 総ビタミン C 濃度測定

総ビタミン C（V.C）濃度の測定は池ヶ谷¹⁹の方法を用いた。果汁 5 ml を採取後，直ちに 5 %メタリン酸を加え混合した。定容後 0.45 μm フィルターでろ過し，高速液体クロマトグラフィ（HPLC）分析に供し，還元型 V.C（AsA，アスコルビン酸）の特異吸収波長 242 nm で検出測定した。別に抽出液中の酸化型 V.C（DAsA，デヒドロアスコルビン酸）はジチオスレイトール（DTT）溶液で還元して AsA として測定し総 V.C とし，先の AsA 測定値を差し引いて DAsA 値を算出した。表 2 に HPLC の条件を示した。

表 2 V.C の分析条件

装置	日本分光高速液体クロマトグラフ
検出器	MD-980 紫外(242nm)
カラム	Inertsil OSD-3(4.6mm×250mm)
カラム温度	30°C
移動相	1%メタリン酸
流量	1.0mL/min

2-5 糖および有機酸濃度測定

果汁 5 ml を採取後，一定濃度に希釈して，0.45 μm フィルターでろ過し，HPLC 分析に供した。表 3，表 4 に HPLC の条件を示した。

表 3 糖の分析条件

装置	日本分光高速液体クロマトグラフ
検出器	示差屈折率
カラム	Asahi-pak NH2P-50(4.6mm×250mm)
カラム温度	30°C
移動相	75%アセトニトリル溶液
流量	1.0mL/min

表 4 有機酸の分析条件

装置	島津高速液体クロマトグラフ
検出器	電気伝導度
カラム	Shim-pack SCR-102H(8mm×300mm)
カラム温度	40°C
移動相	p-トルエンスルホン酸
流量	0.8mL/min

2-6 フラボノイド類濃度測定

測定は野方²⁰の方法を参考に行った。10 倍希釈した果汁 5 ml を遠心分離（3000rpm,10min）し，上清を回収後，沈殿に抽出溶媒（methanol : dimethyl sulfoxide（DMSO）=1 : 1）0.5 ml を入れて混和した。遠心分離（3000rpm,10min）後，上清を回収して，先の上清と混合し，SepPak C18 カートリッジに吸着させ，再度溶出させた液を 5ml に定容し HPLC 分析に供した。表 5 に HPLC の条件を示した。

表 5 フラボノイド類の分析条件

装置	島津高速液体クロマトグラフ
検出器	フォトダイオードアレイ
カラム	LiChrospher100(4mm×250mm)
カラム温度	35°C
移動相	A液 10mM リン酸溶液 B液 メタノール
流量	0.6mL/min
グラジエント	0-70分 90-0%A液、70-90分 0%A液

2-7 香気成分測定

果汁 1 g をバイアルに入れ，30 °C に加熱した。SPME ファイバーをヘッドスペース中に 30 分間露出し揮発成分を吸着させた。ファイバーを GC/MS に挿入し揮発成分を測定した。表 6 に GC/MS の条件を示した。

表 6 GC/MS の分析条件

装置	島津ガスクロマトグラフ質量分析計
カラム	DB×WAX(0.25mm×60m)
SPME	65 μm PDMS/DVB Stableflex/SS
気化室温度	230°C
カラム温度	50°C(5min) 50-230°C(3°C/min) 230°C(5min)
キャリアガス	ヘリウム
流量	1.0mL/min

3 結果および考察

3-1 果汁の外観

果汁の外観を図1に示す。分光色色計で測定したところ、青ユズ（皮なし）の果汁（③）はL*が高く、a*およびb*は低かった（表7）。黄ユズの果汁は、皮なしのもの（②）が青ユズ（皮なし）と同様にL*が最も高くかったが、a*およびb*については、皮ありの方が皮なしよりも低い（赤味、黄色味が弱い）ものも見られた。果汁の濁度を比較するために、660nmの吸光度を測定したところ、皮なしの果汁が低い結果となった。また、L*が低いものほど吸光度が高い傾向が見られた。果汁を遠心分離した外観（図2）を比較すると、皮なしのもの（②、③）は液面上の水より軽い成分がほとんど見られなかった。このことから、搾汁により外果皮から成分が果汁へと移行し、その移行の程度の違いによりL*および吸光度が変化していることが予想された。

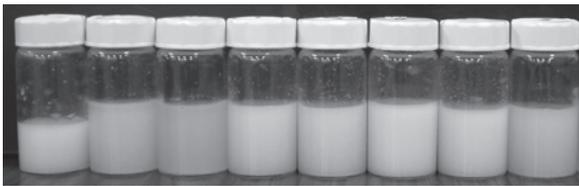


図1 果汁の外観（左より①～⑧）

表7 色調分析および濁度結果

	L*	a*	b*	吸光度
①	47.15	-2.40	46.90	0.395
②	58.56	-1.53	37.61	0.125
③	69.57	-0.91	24.93	0.084
④	51.62	-3.35	42.55	0.312
⑤	53.54	-3.49	37.72	0.281
⑥	41.27	1.08	49.82	0.820
⑦	46.15	-1.78	51.71	0.484
⑧	57.03	-3.58	32.58	0.216

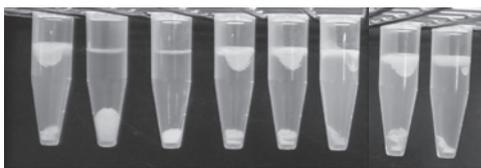


図2 遠心分離後語の果汁の外観（左より①～⑧）

3-2 総V.C濃度の比較

V.Cの分析結果を図3に示す。総V.Cを見ると、

大きな差は見られなかった。しかし、DAsA濃度に関しては、他のサンプルが全体の1割程度であるのに対し、⑥のサンプルのみが5割近い値となった。これは、⑥サンプルのみが加熱殺菌された製品であることから、処理工程において加熱により酸化が促進されたためと考えられた。

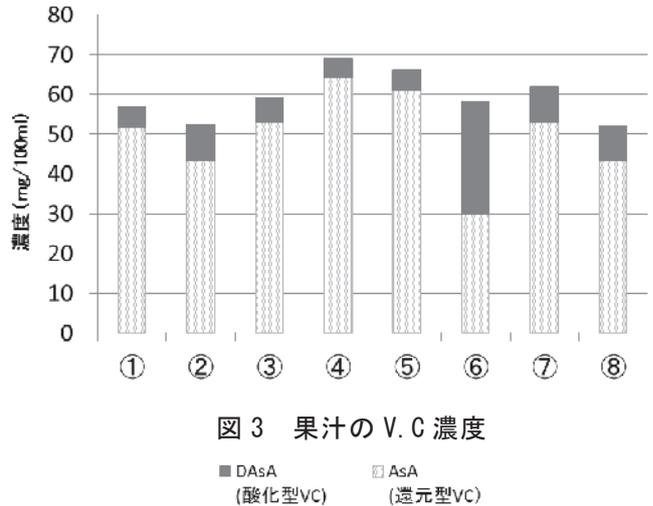


図3 果汁のV.C濃度

3-3 糖および有機酸濃度の比較

糖の分析結果を図4、有機酸の分析結果を図5に示す。青ユズ果汁③は、糖濃度が黄ユズ果汁の半分程度であったが、有機酸濃度には大きな差は見られなかった。また、加熱殺菌された黄ユズ果汁⑥の糖組成は、他と比べショ糖の割合が低くなっていた。これは加熱により、ショ糖の一部がブドウ糖と果糖に分解したためと考えられた。

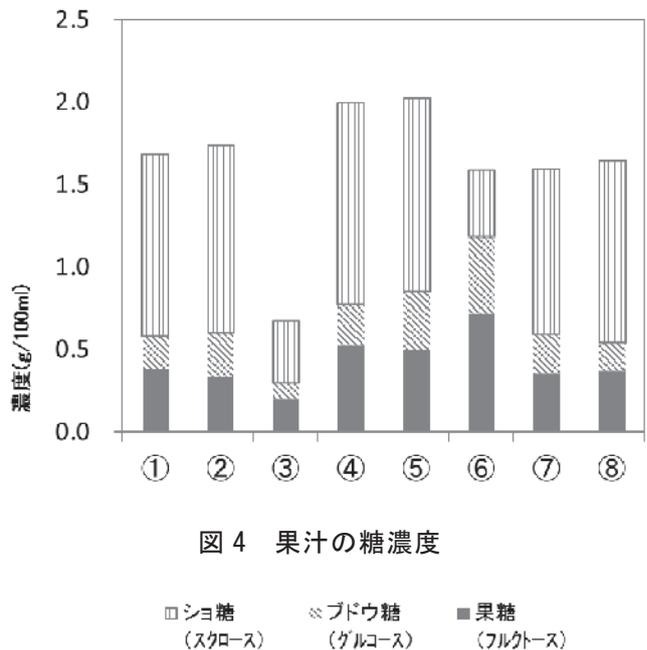


図4 果汁の糖濃度

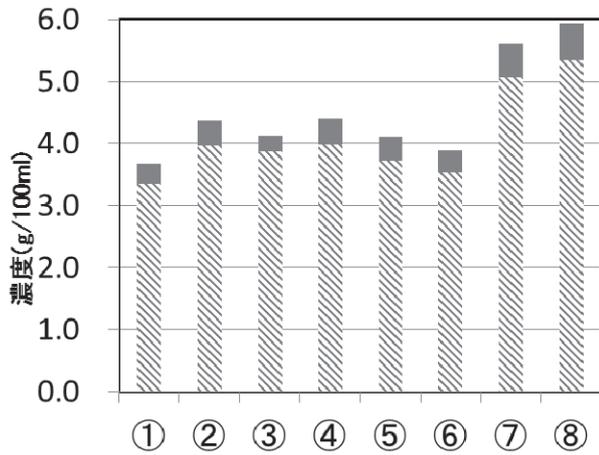


図5 果汁の有機酸濃度
■リンゴ酸 ▨クエン酸

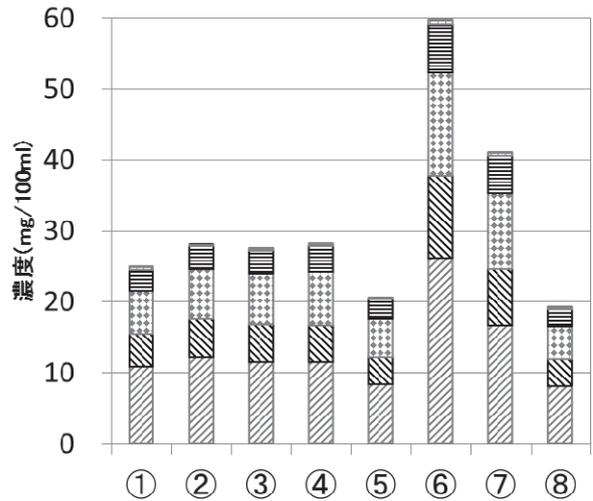


図7 果汁のフラボノイド類濃度

▨ TNG ■ NOB ▨ NPO ▨ NHP
▨ HSP ▨ NRG ▨ NRT

3-4 フラボノイド類濃度の比較

フラボノイド類は多数存在するが、今回は図6の7種のフラボノイド類のみ測定した。

測定結果を図7に示す。検出されたフラボノイド類は、ナリルチンが最も多く、次いでヘスペリジン、ナリンギン、ネオヘスペリジンが多く含まれていた。ネオポンシリンはわずかであり、ポリメトキシフラボンであるタンゲレチン、ノビレチンはほとんど含まれていなかった。

フラボノイド類の総量を見てみると、皮ありの黄ユズ果汁の中で、⑥次いで⑦が多く、⑧が最も少なかった。これを濁度と比較したところ、⑥次

いで⑦が高く、⑧が最も低かった。濁度は、搾汁時に果汁へと混入した果皮からの繊維分などに起因していると考えられる。フラボノイド類も、果実の中でそのほとんどが果皮に存在しており、搾汁時の圧力で果皮から果汁へ移行すると考えられる。⑥は生産したメーカーの聞き取りで確認したところ、ベルト式搾汁機の間隔を狭く、強く搾汁している果汁であった。このことから、果汁の含まれるフラボノイド類の差は、ベルト搾汁時の圧力の差に起因しているものと考えられた。

化合物名	略称	R	R1	R2
ナリルチン	NRT	rutinose	H	H
ナリンジン	NRG	neohesperidose	H	H
ヘスペリジン	HSP	rutinose	OH	Me
ネオヘスペリジン	NHP	neohesperidose	OH	Me
ネオポンシリン	NPO	rutinose	H	Me

化合物名	略称	R	R1	R2
ノビレチン	NOB	OMe	Ome	H
タンゲレチン	TNG	OMe	H	H

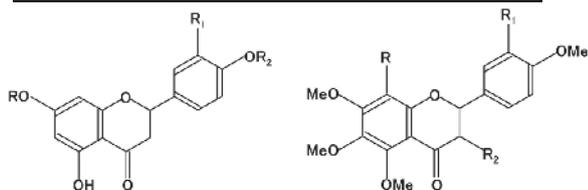


図6 フラボノイド類の構造

(上表および左図：フラバノン)

下表および右図：ポリメトキシフラボン)

3-5 香気成分の比較

検出された香気成分のピーク面積をまとめたものを図8に示す。②および③は、極端に香気成分が少なかった。香気成分は、主にフラベド部分の油胞に存在する。そのため剥皮したものでは香気ほとんど検出されなかったと考えられた。その他の皮ありの黄ユズ果汁を比較すると、フラボノイド類の場合と同じく、⑥、⑦が多く、⑧が最も少なかった。これもやはり、香気成分がフラベド部分の油胞に存在するため、搾汁時の圧力が高いと考えられる⑥、⑦が、搾汁に香気成分が果汁へと多く移行し、圧力が低いと考えられる③が移行が少なかったためと考えられた。しかし、フラボノイド類と比較すると、逆に⑥よりも⑦の方が高くなっていった。これは、香気成分は加熱により蒸

散しやすいため、加熱殺菌された製品である⑥の
 香気成分の一部がその加熱により減少したためと
 考えられた。

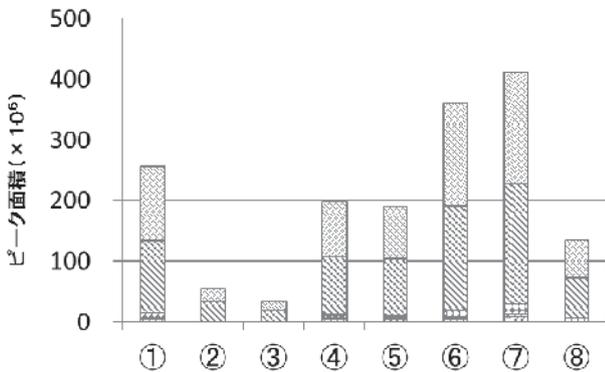


図8 果汁のGC/MS分析結果

■ その他 ■ リナロール ▨ リモネン
 ▨ ミルセン ▨ β-ピネン ▨ α-ピネン

4 まとめ

ユズ果汁の比較を行った結果、

- 1) 青ユズ果汁は、黄ユズ果汁と比べ有機酸量は同程度であるが、糖濃度に倍以上の差が認められた。
- 2) フラボノイド類の濃度は、果汁により2倍近い差がみられた。その差は、搾汁時の圧力に起因していると考えられた。
- 3) 香気成分は、搾汁時の果皮の有無、圧力、搾汁後の加熱殺菌により、大きな差が認められた。

5 参考文献

- 1) 池ヶ谷賢次郎, 高柳博次, 阿南豊正, 茶業報告, 71
- 2) 野方洋一, 近畿中国四国農業研究センター研究報告, 5号, 19-84(2005)

搾汁方法の違いによる宮崎県産日向夏果汁の成分変化

高橋 克嘉*¹・福山 明子*²・柚木崎 千鶴子*³・山田 和史*

Ingredient Change of the Juice of Citrus Tamurana Grown in Miyazaki by the Difference in Juice Method

Katsuyoshi TAKAHASHI, Akiko FUKUYAMA, Chizuko YUKIZAKI
and Kazuhumi YAMADA

宮崎県産日向夏を原料に、3種類の搾汁機（パルパー式、インライン式、ベルト式）を用いて搾汁し、その成分を比較した。また、搾汁前の処理や、搾汁時の圧力の違いについても比較を行った。糖や有機酸などの主成分に差は認められなかったが、フラボノイド類と香気成分に大きな違いが認められた。香気成分は、果皮のないもの、ブランチングを行ったもので少なくなった。フラボノイド類は、インライン式が多く、ベルト式が少なかった。このことから、搾汁方法を選択することで、利用目的に応じた果汁を製造可能であると考えられた。

キーワード：日向夏，果汁，搾汁

1 はじめに

宮崎県は農林水産業の盛んであり、特にユズ(生産量全国4位)、日向夏(生産量全国1位)、へべス(本県特有の香酸柑橘)等の柑橘類の生産量が多い。これらの柑橘類は、加工用原料として用いられる割合が高いという特徴がある。日向夏はその3割が、ユズにおいてはその9割が加工用原料として使用される。

これらの柑橘類の加工は、主に果汁を取るための搾汁であるが、その搾汁には複数の方法がある。その搾汁方法や、搾汁時の機械の調整により、果汁の味・香り等の性状が変化することが経験的に知られている。果汁の高付加価値化には搾汁方法の違いによる成分変化を把握することが重要である。また、果汁の成分、性状が変化すれば、その残りである残渣の成分等も変化する。すなわち果汁を分析することで間接的に残渣の性状も推測することができる。そこで今回、日向夏果実を用い、各搾汁方法による果汁の成分(糖、有機酸、

ビタミンC、フラボノイド類、香気)変化を測定したので報告する。

2 実験方法

2-1 試験試料

日向夏は、平成25年宮崎県産を使用した。果汁は、図1に示すとおり、食品開発センターにおけるパルパーチョッパー((株)橋本缶詰研究所製、HC-P)を用いた搾汁(以下、パルパー式)、(株)宮崎県農協果汁におけるインライン式搾汁機を用いた搾汁(以下、インライン式)、(有)米良食品工業におけるベルト式搾汁機を用いた搾汁(以下、ベルト式)により製造した。パルパー式は、日向夏を3種類の前処理条件(果実を生のまま四つ割、90℃10分間ブランチングしてから四つ割、生のまま四つ割りして剥皮)で処理したものを用い、搾汁機のスクリーンとブラシの間隔を変え2パターンの搾汁を行うことで、合計6種類の果汁を得た。ベルト式は、搾汁機のベルト間隔を変えて3パターンの搾汁を行い3種類の果汁を得た。インライン式は、(株)宮崎県農協果汁の果汁(缶詰時に加熱殺菌)を提供していただいた。合計10

* 食品開発部

*¹ 食品開発部(現 資源環境部)

*² 食品開発部(退職)

*³ 食品開発部(現 宮崎県食品・メディカル産業推進室)



図1 搾汁機（左から、パルパー式，インライン式，ベルト式）

表1 分析に用いた日向夏果汁

	前処理	搾汁	間隔	果汁加熱
①	生	パルパー	広い	なし
②	生	パルパー	狭い	なし
③	ボイル	パルパー	広い	なし
④	ボイル	パルパー	狭い	なし
⑤	剥皮	パルパー	広い	なし
⑥	剥皮	パルパー	狭い	なし
⑦	生	インライン		あり
⑧	生	ベルト	広い	なし
⑨	生	ベルト	中間	なし
⑩	生	ベルト	狭い	なし

種の果汁を表1に示す。果汁はすべて-20℃で凍結保存し、随時解凍を行い分析に供した。

2-2 色彩測定

各果汁を測定用のセル（石英ガラスセル，光路長10mm）に一定量入れ分光測色計（日本電色工業（株）社製 SD6000）を用いてL*a*b*表色系により明度，色度を測定した。

2-3 総ビタミンC濃度測定

総ビタミンC（V.C）濃度の測定は池ヶ谷¹⁹らの方法を用いた。果汁5mlを採取後，直ちに5%メタリン酸を加え混合した。定容後0.45μmフィルターでろ過し，高速液体クロマトグラフィ（HPLC）分析に供し，還元型V.C（AsA，アスコルビン酸）の特異吸収波長242nmで検出測定した。別に抽出液中の酸化型V.C（DAsA，デヒドロアスコルビン酸）はジチオスレイトール（DTT）溶液で還元してAsAとして測定し総V.Cとし，先のAsA測定値を差し引いてDAsA値を算出した。表2にHPLCの分析条件を示した。

2-4 糖および有機酸濃度測定

果汁5mlを採取後，一定濃度に希釈して，0.45μmフィルターでろ過し，HPLC分析に供した。表3，表4にHPLCの条件を示した。

表2 V.Cの分析条件

装置	日本分光高速液体クロマトグラフ
検出器	MD-980 紫外(242nm)
カラム	Inertsil OSD-3(4.6mm×250mm)
カラム温度	30℃
移動相	1%メタリン酸
流量	1.0mL/min

表3 糖の分析条件

装置	日本分光高速液体クロマトグラフ
検出器	示差屈折率
カラム	Asahi-pak NH2P-50(4.6mm×250mm)
カラム温度	30℃
移動相	75%アセトニトリル溶液
流量	1.0mL/min

表4 有機酸の分析条件

装置	島津高速液体クロマトグラフ
検出器	電気伝導度
カラム	Shim-pack SCR-102H(8mm×300mm)
カラム温度	40℃
移動相	p-トルエンスルホン酸
流量	0.8mL/min

2-5 フラボノイド類濃度測定

測定は野方²⁰の方法を参考に行った。10倍希釈した果汁5mlを遠心分離（3000rpm,10min）し，上清を回収後，沈殿に抽出溶媒（methanol：dimethyl sulfoxide（DMSO）=1：1）0.5mlを入れて混和した。遠心分離（3000rpm,10min）後，上清を回収して，先の上清と混合し，SepPak C18カートリッジに吸着させ，再度溶出させた液を5mlに定容しHPLC分析に供した。表5にHPLCの条件を示した。

表5 フラボノイド類の分析条件

装置	島津高速液体クロマトグラフ
検出器	フォトダイオードアレイ
カラム	LiChrospher100(4mm×250mm)
カラム温度	35℃
移動相	A液 10mM リン酸溶液 B液 メタノール
流量	0.6mL/min
グラジエント	0-70分 90-0%A液、70-90分 0%A液

2-6 香氣成分測定

果汁 1 g をバイアルに入れ、30 °C に加熱した。SPME ファイバーをヘッドスペース中に 30 分間露出し揮発成分を吸着させた。ファイバーを GC/MS に挿入し揮発成分を測定した。表 6 に GC/MS の条件を示した。

表 6 GC/MS の分析条件

装置	島津ガスクロマトグラフ質量分析計
カラム	DB × WAX(0.25mm × 60m)
SPME	65 μm PDMS/DVB Stableflex/SS
気化室温度	230°C
カラム温度	50°C(5min) 50-230°C(3°C/min)
	230°C(5min)
キャリアガス	ヘリウム
流量	1.0mL/min

2-7 官能検査

官能評価は、当センター職員 11 名をパネラーとし、甘味、酸味、渋味、苦み、さわやかな香り、甘い香り、加熱臭を評価項目とし、1~5 点の採点法で評価を行った。

3 結果および考察

3-1 果汁の外観

果汁の外観を図 2 に示す。分光色色計で測定したところ、パルパー搾汁したもの(①~⑥)が、b*値が大きいことから、黄色味が強い傾向が見られた(表 7)。明度を比較すると、インライン式(⑦)および生果実のパルパー式の果汁(①及び②)の明度が低く、果皮成分の果汁への混入が多いことが推察された。また、ベルト式ではベルト間隔が狭く(搾汁の圧力が強く)なるに従い明度が低下していることから、圧力に従い果皮成分が果汁へ混入していることが推察された。



図 2 果汁の外観 (左より①~⑩)

表 7 色調分析結果

	L*	a*	b*
①	54.74	0.05	36.77
②	54.18	0.15	37.43
③	62.92	1.34	32.92
④	61.43	1.35	33.62
⑤	63.71	1.72	31.69
⑥	63.33	1.71	31.29
⑦	55.50	-0.26	30.91
⑧	67.39	0.42	27.35
⑨	64.04	0.30	27.65
⑩	60.70	-0.14	28.76

3-2 総 V.C 濃度の比較

V.C の分析結果を図 3 に示す。総 V.C を見ると、ベルト式の果汁の濃度が若干少ない傾向を示したが、全体的に大きな差は見られなかった。DAsA 濃度は、殺菌工程などにより熱を加えられた場合増加する傾向があるが、今回 1 サンプルだけ加熱殺菌されているインライン式の果汁(⑦)は、他と大きな差はみられなかった。これは、殺菌工程がプレート殺菌による短時間加熱ため、影響が少なかったと推測された。また、いずれの搾汁方法においても DAsA 濃度は総 V.C の 10% 以下であり、搾汁時の酸化の影響は少ないと考えられた。

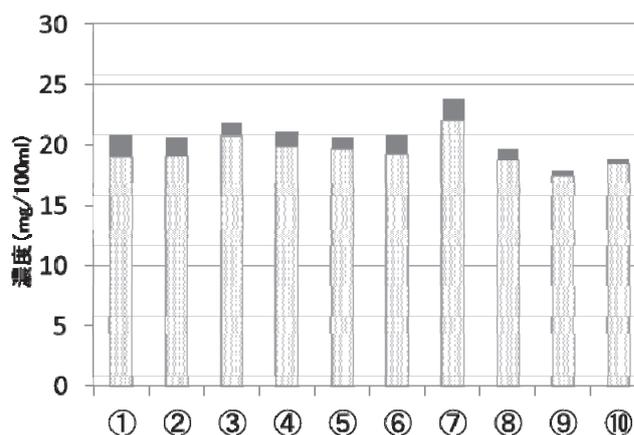


図 3 果汁の V.C 濃度

■ DAsA □ AsA

3-3 糖および有機酸濃度の比較

糖の分析結果を図 4、有機酸の分析結果を図 5 に示す。成分割合、総量ともに大差はなく、搾汁方法の違いによる糖・有機酸への影響は少ないと考えられた。

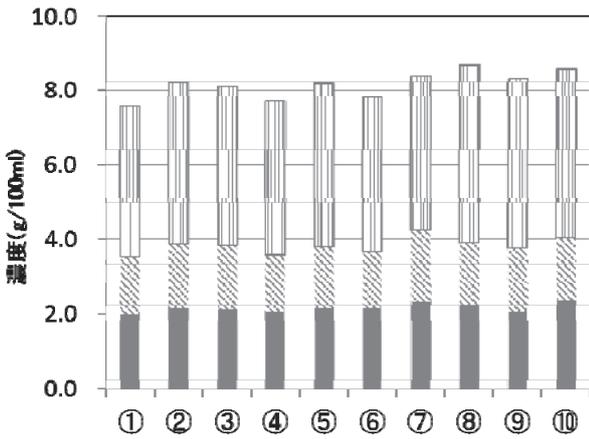


図4 果汁の糖濃度

シヨ糖 (スクーラ) ブドウ糖 (グルコラ) 果糖 (フルクトラ)

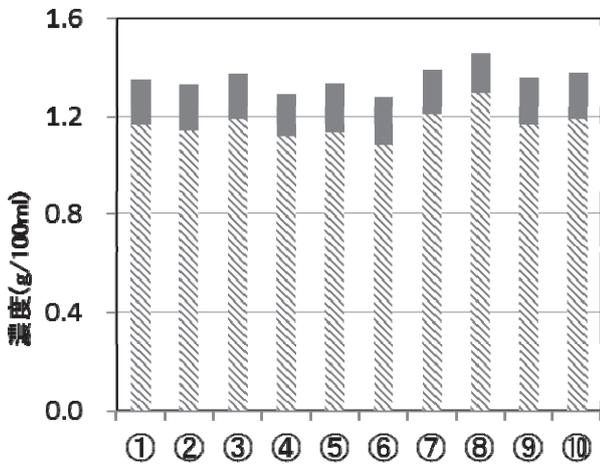


図5 果汁の有機酸濃度

リンゴ酸 クエン酸

3-4 フラボノイド類濃度の比較

フラボノイド類は多数存在するが、今回は図6の7種のフラボノイド類を測定した。

測定結果を図7に示す。検出されたフラボノイド類は、ナリルチンとヘスペリジンが中心であり、ついでネオポンシリが多く、ノビレチンとタンゲレチンはわずかであった。ナリンジンとネオヘスペリジンは検出されなかった。

フラボノイド類の総量を見てみると、インライン式(⑦)が最も多く、最も少ないベルト式(⑧)と比較して4倍以上含まれていた。柑橘類のフラボノイド類は、果皮に多く含まれており、果肉には少ないことが知られている²⁾。インライン式は、内果皮(じょうのう)をすり潰すように搾汁するため、果汁へフラボノイド類が多く移行したものと推測された。一方、ベルト式は果皮が強くすり潰されることがないため、フラボノイド類の移行

化合物名	略称	R	R1	R2
ナリルチン	NRT	rutinose	H	H
ナリンジン	NRG	neohesperidose	H	H
ヘスペリジン	HSP	rutinose	OH	Me
ネオヘスペリジン	NHP	neohesperidose	OH	Me
ネオポンシリ	NPO	rutinose	H	Me

化合物名	略称	R	R1	R2
ノビレチン	NOB	OMe	Ome	H
タンゲレチン	TNG	OMe	H	H

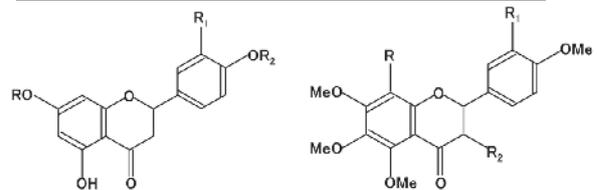


図6 フラボノイド類の構造

(上表および左図: フラバノン)

下表および右図: ポリメトキシフラボン

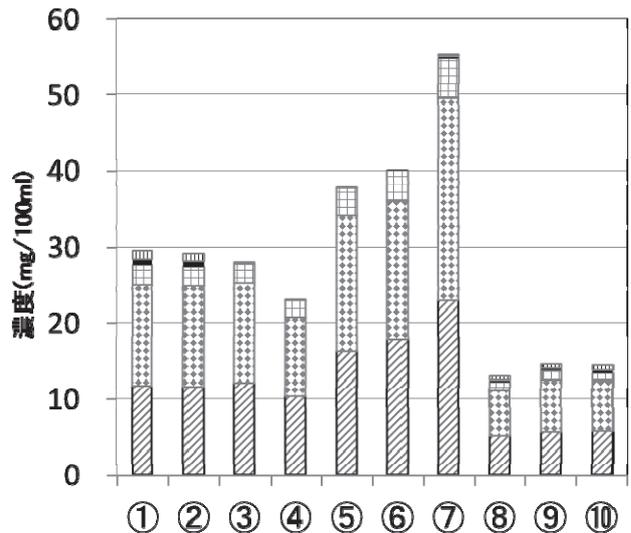


図7 果汁のフラボノイド類濃度

TNG NOB NPO NHP
HSP NRG NRT

が少ないものと考えられた。

パルパー式のフラボノイド類を比較してみると、剥皮のもの(⑤、⑥)が一番高い。今回、剥皮したものは、果実の外果皮(フラベド)と中果皮(アルベド)を取り除いているが、じょうのうは残っている(図8)。フラボノイド類はじょうのうにも多く含まれる。また、パルパー式は、回転するブラシとスクリーンの隙間に果実が入り、ブラシで果実がスクリーンに押し付けられること

によって搾汁される(図9)。じょうのうのみとなった果実は柔らかく、ブラシに引っかかりやすいため、果実がスクリーンに強く押し付けられ、結果としてフラボノイド類が果汁に多く移行したのではないかと推測された。

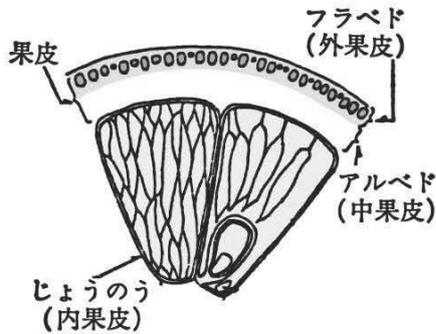


図8 柑橘類の構造

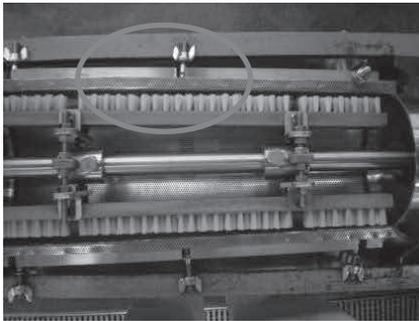


図9 パルパーの構造

フラボノイド類の中で特にタンゲレチンとノビレチンについてみると、生のパルパー式(①、②)が最も多く、次いでベルト式(⑧~⑩)で検出され、他ではほとんど検出されなかった。タンゲレチンやノビレチンなどのポリメトキシフラボンは、フラベド部分に多く存在し、他にはほとんど存在しないことが分かっている³⁾。パルパー式の場合、フラベドが強くスクリーンでこすられたために、ポリメトキシフラボンが果汁に多く移行したと考えられた。ブランチング処理したものの(③、④)では低くなっているが、これはポリメトキシフラボンが熱水に溶出したためと推測された。フラベドのない剥皮したものの(⑤、⑥)では、当然のことながらポリメトキシフラボンは検出されていない。インライン式では、その構造上、フラベド、アルベドを外しながら内部から果汁を吸引して搾汁するため、フラベドに存在するポリメトキシフラボンが果汁に移行しにくいものと考

えられた。逆にベルト式では、外側からプレスしフラベド部分に接触しながら果汁が回収されるために、比較的果汁に移行しやすかったものと考えられた。野方²⁾は、ポンカン果汁の比較において、ハンドプレス果汁がポリメトキシフラボンの量が一番多く、次いでインライン式で、剥皮したパルパー式では殆ど存在しないと報告している。今回の結果では、ハンドプレスに類似したベルト式がインライン式の果汁よりポリメトキシフラボンが多く、剥皮したパルパー式は殆ど存在しない結果となっており、この報告と合致する。

3-5 香気成分の比較

検出された香気成分をピーク面積で比較検討した(図10)。パルパー式の場合、前処理方法の違いによる差が大きく出た。総ピーク面積は果実を生のまま搾った果汁(①、②)が最も高く、ブランチング処理して絞った果汁(③、④)はその1/4程度、剥皮処理して絞った果汁(⑤、⑥)が1/10程度であった。

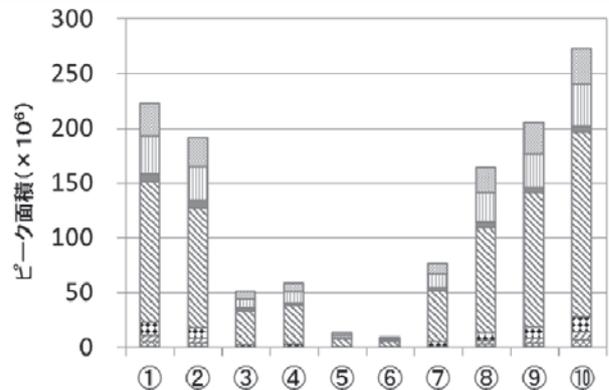


図10 果汁のGC/MS分析結果

■その他 ■γ-テルピネン ■リナロール ■リモネン
 ■ミルセン ■β-ピネン ■α-ピネン

香気成分は、主にフラベド部分の油胞に存在する。そのため剥皮したものでは香気がほとんど検出されなかった。また、香気成分は加熱により蒸散しやすいため、ブランチングしたものは香気が低くなったと推定された。インライン式の果汁⑦の香気が低いのも、加熱殺菌により香気成分が一部蒸散したためと推測された。ベルト式(⑧~⑩)の場合、ベルト間隔が狭く(搾汁の圧力が強く)なるに従い香気成分が増加している傾向がみられ

た。これは、ベルト式ではフラボノイド類の場合と同様に、外側からプレスしフラベド部分に接触しながら果汁が回収されるために、フラベド部分に存在する香気成分が果汁に移行しやすく、また、圧力が強いほどフラベドに存在する油胞がつぶされ、香気成分が外部に流出し果汁に混合しやすくなるため、香気成分が増加したものと考えられた。

3-6 成分と官能検査結果の比較

官能検査の結果を図 11 に示す。さわやかな香りに関しては、香気成分の最も多い⑩の果汁が最もさわやかな香りがするという回答が得られ、GC/MS の総ピーク面積の数値と相関する傾向がみられた。ただ、加熱臭に関しては、さわやかな香りと逆の順位になっており、実際は加熱を行っていない⑥の果汁が最も高い結果となった。これはパネラーから、「香りがいい = 加熱している」と判断されたのではないかと推測された。正確に果汁の特性を評価するためには、評価用語を再検討する必要があると考えられた。味覚に関しては、酸味と有機酸の分析結果に相関がみられないなど、単独の成分分析の結果だけでは説明できない結果となった。今後、今回測定を行っていない成分や、香りと味の相関等について、検討を行う必要があると思われた。

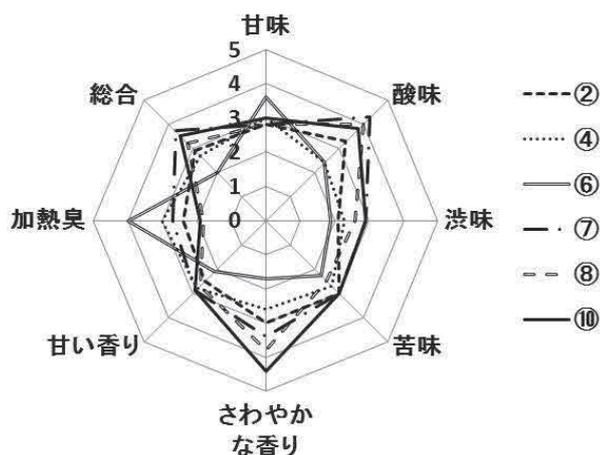


図 11 果汁の官能検査結果

4 まとめ

日向夏の搾汁を行う場合、

- 1) パルパー式の場合、タンゲレチンやノビレチンなどのフラボン類が比較的多く含まれる果汁が搾汁できる傾向が認められた。
- 2) インライン式の場合、フラボノイド類が多く含まれる、しっかりした味わいの果汁が搾汁できる傾向が認められた。
- 3) ベルト式の場合、香り高い、すっきりした味わいの果汁が搾汁できる傾向が認められた。

5 参考文献

- 1) 池ヶ谷賢次郎, 高柳博次, 阿南豊正, 茶業報告, 71
- 2) 野方洋一, 近畿中国四国農業研究センター研究報告, 5号, 19-84(2005)
- 3) 福山明子, 寺崎美季, 高橋克嘉, 松浦靖, 柚木崎千鶴子, 宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告, 57(2012)

抽出温度によるへべス精油組成の変化

高橋 克嘉^{*2}・永山 志穂^{*1}・山田 和史^{*1}

Changes in Hebesu Essential Oil Composition Depending on Extraction Temperature

Katsuyoshi TAKAHASHI, Shiho NAGAYAMA and Kazuhumi YAMADA

宮崎県産へべスをインライン式搾汁機で搾汁した残渣を原料として、精油の抽出試験を行った。へべスの精油は、日向夏、ユズの精油と比較すると、 β フェランドレンや α -エレメンといったクリーンな香気の成分が多く含まれる一方、オクタナール、デカナールと行った果実様、フルーティーな香りも多く、その両方の特性を併せ持つ精油であると考えられた。また、抽出温度が低いとフルーティーな、高いとグリーンな香り成分が多くなる傾向が見られた。官能検査では、低温の減圧蒸留の精油がフレッシュ感、柑橘らしさがあり好ましいという結果であった。

キーワード：へべス，残渣，精油，抽出温度

1 はじめに

宮崎県は農林水産業の盛んであり、ユズ（生産量全国 4 位）、日向夏（生産量全国 1 位）、へべス（本県特有の香酸柑橘）等の柑橘類の生産量が多い。これらの柑橘類は、加工用原料として用いられる割合が高いという特徴がある。日向夏はその 3 割が、ユズにおいてはその 9 割が加工用原料として使用される。加工残渣は一部が果皮加工品として利用されるが、廃棄される量も多い。以前当センターにて実施した「廃棄物リサイクルに関する研究」¹⁾の結果より、搾汁残渣の有効利用が求められていることが分かった。また、果汁価格の低下等から、果汁の高付加価値化、果皮および果皮の香り成分を利用した更なる製品開発も求められている。

搾汁残渣の利用方法の 1 つとして、残渣から香り成分である精油を抽出して利用する方法がある。柑橘類の精油は、そのままアロマテラピーなどのオイルとして使用される他、食品や化粧品、雑貨などの香料として用いられるなど、幅広い用途がある。近年、和柑橘に対する需要の高まりとともに、その精油の需要も増加している。

そこで今回、インライン式搾汁機による残渣であるため果皮をそのまま菓子原料などに利用することが難しく、また、本県独特の果実であり、その香り組成がまだ十分把握されていないへべスの搾汁残渣を原料に、抽出温度を変化させたときの精油組成の変化について分析を行ったので報告する。

2 実験方法

2-1 試験試料

へべス残渣は、平成 27 年宮崎県産へべスを原料とし、(株)宮崎県農協果汁に設置されたインライン式搾汁機により搾汁された残渣を用いた。また、比較のために、同じくインライン搾汁機により搾汁された宮崎県産日向夏残渣およびベルト式搾汁機により搾汁された宮崎県産ユズ搾汁残渣を用いた。原料は真空パック後、 -20°C で凍結保存し、必要に応じて解凍したものの使用した。

2-2 抽出方法

精油の抽出は常圧水蒸気蒸留および減圧水蒸気蒸留で行った（図 1）。サンプルは、原料を蒸留水と 1 : 1 で混合し、ミキサーに 1 min かけてペースト状にしたものを使用した。1 回のサンプル量は 400 g とした。常圧水蒸気蒸留は、加熱され

*1 食品開発部

*2 食品開発部（現 資源環境部）

た水蒸気を大気圧下でサンプルへと導入し精油を抽出した。減圧水蒸気蒸留は、真空ポンプと圧力コントローラーにより、系内の圧力を一定にコントロールし精油を抽出した。圧力は、抽出温度が 40 °C、60 °C、80 °C となる飽和水蒸気圧、73.8 hPa、199.4 hPa、475.3 hPa とした。水蒸気と共にサンプルから発生した揮発成分を冷却・回収し、静置後分離した上部の油層を精油として回収した。

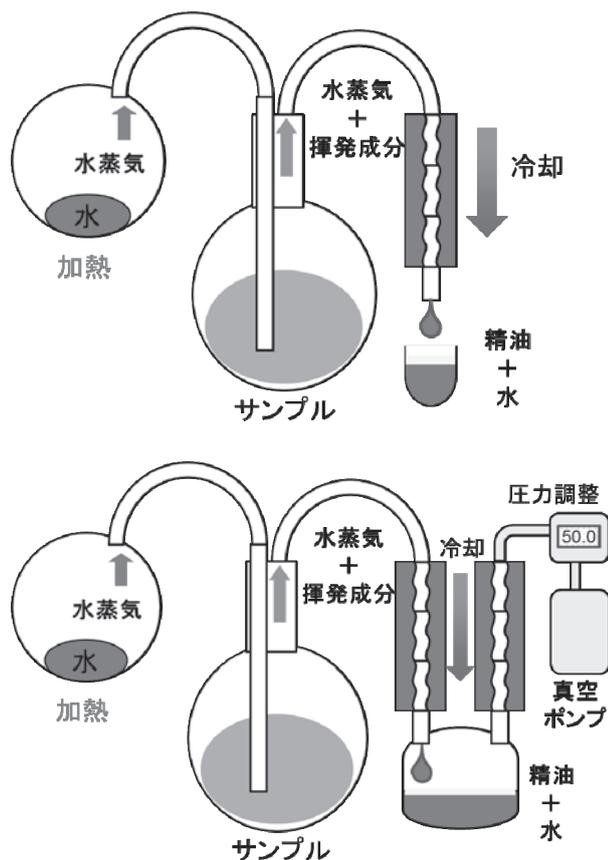


図1 蒸留装置の構造
(上：常圧水蒸気蒸留装置
下：減圧水蒸気蒸留装置)

2-2 香気成分測定

精油 10 μ l をアセトンで 1000 倍に希釈し、分析に供した。その際、内部標準物質として n-ヘプタノールを、精油の 1/100 量添加した。その溶液 1 μ l をシリンジで GC-MS に導入し、分析を行った。表 1 に GC-MS の分析条件を示した。

得られたデータは、NIST Mass Spectral Library (NIST 14) および Aroma office 6.0 のデータベースにより成分の同定を行った。

表 1 GC/MS の分析条件

装置	島津ガスクロマトグラフ質量分析計
カラム	DB \times WAX(0.25mm \times 60m)
注入量	1 μ l
気化室温度	230°C
カラム温度	70°C(5min) 50-230°C(2°C/min)
	230°C(5min)
キャリアガス	ヘリウム
流量	1.0mL/min

2-3 官能評価

官能評価は、一般消費者 33 名をパネルとし、A (減圧水蒸気蒸留 40°C) と B (常圧水蒸気蒸留) 2 つのサンプルを試験紙に含ませ、その香りを 1 対比較試験で比較した。評価項目は差があるか、フレッシュ感、柑橘らしさ、好みの 4 項目とした。

3 結果および考察

3-1 ヘベス精油と他の精油の比較

ヘベスおよび比較のためユズ、日向夏残渣を原料とした常圧水蒸気蒸留による精油の、GC-MS による分析結果を表 2 に示す。

精油の中で最も多く含まれているのはリモネンであったが、その割合は、日向夏が最も高く、ヘベスが最も低かった。リモネンは柑橘香を有するが、その香りは比較的弱い。果実としての香気が、日向夏が弱く、ヘベス、ユズが強いのは、リモネンの割合の差にも起因していると推測された。

他の成分を比較してみると、日向夏はサビネンや 3-カレンなどのスパイシー・樹脂様の香りや、リナロールといったフローラルな香りを有する成分が比較的多く、ユズは α -テルピネオールといったライラック用の香りや、 δ -カジネンといったハーブのような香りの成分が比較的多く見られるなど、精油それぞれの特徴が見られた。中でもヘベスは、 α -フェランドレン、 β -フェランドレン、 β -エレメン、 α -ファルネセンといったグリーン・ウディーな香気を有する成分が多く含まれていた。また、オクタナールや、ノナナール、デカナールといった、柑橘・果実様の香りや、 β -ファルネセンといった甘く、フローラルな香りの成分も多く含まれていた。このことから、ヘベスの精油は、爽やかなグリーン系の香りとフローラルな香りを合わせ持つ精油であると考えられた。

表2 常圧水蒸気蒸留による精油中の各成分の割合

精油中の割合(%)			成分	香りの特徴
へべス	ユズ	日向夏		
2.16	2.34	1.24	α -ピネン	針葉樹 グリーン
0.67	0.83	0.69	β -ピネン	針葉樹 グリーン
0.09	0.00	0.20	サビネン	スパイシー
0.00	0.00	0.64	γ -カレン	樹脂用 柑橘様
2.13	2.14	2.20	ミルセン	スパイシー 樹脂様
1.73	0.86	0.12	α -フェランドレン	シトラス グリーン ペッパー
0.61	0.62	0.20	α -テルピネン	レモン臭
58.30	67.08	78.05	リモネン	柑橘様
8.70	3.59	0.33	β -フェランドレン	ペパーミント様
12.25	12.51	9.40	γ -テルピネン	スパイシー ウッディー
0.45	0.51	0.46	p-シメン	ウッディー スパイシー
0.64	0.78	0.52	テルピノレン	レモン臭
0.62	0.00	0.02	オクタナール	柑橘様 フルーティー
0.15	0.00	0.00	ノナナール	柑橘・果物様
0.00	0.00	0.04	シトロネラール	柑橘様 グリーン
0.05	0.09	0.05	α -コパネン	グリーン ウッディー スパイシー
0.52	0.06	0.04	デカナール	果実様
0.44	0.98	1.36	リナロール	フローラル
0.07	0.00	0.00	1-オクタノール	甘い 柑橘様
0.00	0.00	0.08	α -ベルガモテン	グリーン
0.75	0.06	0.04	β -エレメン	グリーン ウッディー
0.04	0.31	0.16	カリオフィレン	スパイシー
0.47	0.35	0.11	テルピネン-4-オール	グリーン ウッディー スパイシー
0.08	0.00	0.07	シトロネリルアセテート	バラ様 柑橘様
2.15	1.06	0.55	β -ファルネセン	甘い フローラル
0.10	0.09	0.04	α -ヒュムレン	スパイシー ホップ様
0.75	1.97	0.16	α -テルピネオール	ライラック様
0.05	0.07	0.00	デカナール	グリーン 柑橘様
0.18	0.25	0.11	ゲルマクレンD	グリーン ウッディー スパイシー
0.00	0.00	0.12	ネリルアセテート	甘い柑橘様 花様
0.00	0.53	0.35	ピシクロゲルマクレン	グリーン ウッディー スパイシー
1.16	0.00	0.00	α -ファルネセン	グリーン ウッディー
0.06	0.00	0.00	ゲラニルアセテート	柑橘様 バラ様
0.09	0.34	0.11	δ -カジネン	ハーブ ウッディー
0.00	0.00	0.20	シトロネロール	バラ様 柑橘様
0.11	0.14	0.07	β -セスキフェランドレン	甘い フルーティー
0.00	0.14	0.00	ネロール	柑橘様 グリーン
0.00	0.00	0.00	ゲラニオール	バラ様 柑橘様
0.04	0.00	0.00	キュベノール	スパイシー
0.34	0.07	0.00	ビリジフロロール	甘い グリーン ウッディー
95.94	97.75	97.77		

表3 常圧, 減圧水蒸気蒸留によるへべス精油中の各成分の割合

精油中の割合(%)				成分	香りの特徴
40°C	60°C	80°C	常圧		
0.57	0.32	0.31	0.09	サビネン	スパイシー
1.05	0.66	0.65	0.62	オクタナール	柑橘様 フルーティー
0.26	0.12	0.13	0.15	ノナナール	柑橘・果物様
0.72	0.57	0.58	0.52	デカナール	果実様
0.80	0.54	0.60	0.44	リナロール	フローラル
0.19	0.26	0.31	0.47	テルピネン4オール	グリーン ウッディー スパイシー
0.99	1.49	2.08	2.15	β ファルネセン	甘い フローラル
0.24	0.30	0.37	0.75	α テルピネオール	ライラック様
0.09	0.19	0.20	0.18	ゲルマクレンD	グリーン ウッディー スパイシー
0.51	1.13	1.53	1.16	α ファルネセン	グリーン ウッディー
0.05	0.07	0.10	0.11	β セスキフェランドレン	甘い フルーティー
0.00	0.00	0.00	0.04	キュベノール	スパイシー
0.00	0.00	0.00	0.34	ビリジフロロール	甘い グリーン ウッディー

3-2 抽出温度の違うヘベス精油の比較

さらに、ヘベス精油の香気的な特性を把握するために、減圧水蒸気蒸留による精油抽出を試みた。40℃、60℃、80℃で抽出した精油中に含まれる成分割合を比較した結果を表3に示す。成分は、温度に応じて変化する傾向が見られた。サビネンからリナロールまでの、リテンションタイムが小さい比較的分子量の小さな成分は、温度の低下とともに、その割合が増加する傾向が見られた。逆に、テルピネン-4-オール以降の、リテンションタイムが大きい比較的分子量の大きな成分は、温度の上昇とともにその割合が増加した。特に、キュベノールやピリジフロロールといった終盤に出てくる成分は、減圧水蒸気蒸留ではほぼ検出されなかった。蒸留温度の低下とともに、GC-MSで後半に検出されるような高沸点の成分は抽出されにくくなり、成分割合が変化したものと考えられた。

低温側で割合の多くなった成分は、スパイシー、柑橘様、果実様の香りを持ち沸点が低い。このことから低温の減圧蒸留の精油は、軽く、華やかで柑橘類らしい香りが強い精油となっていると考えられた。一方、高温で割合の高くなった成分は、グリーン・ウッディーな香りもしくは、甘く・フローラルな香りを持ち、沸点が高い。このことから水蒸気蒸留の精油は、比較的グリーンで甘い香りが強く、ボディ感のある精油となっていると考えられた。以上のことから、抽出条件を調整することで、ヘベス精油の香気のある程度コントロール可能であることが分かった。

3-3 官能評価

試作した精油の嗜好性に関して評価するため、官能評価を実施した。40℃減圧水蒸気蒸留の精油と、常圧水蒸気蒸留の精油を試験紙に染みこませて、その香気を評価した。

まず、両者に差があるかどうか尋ねたところ、殆どの人が両者に違いを感じていた。そして、フレッシュ感および柑橘らしさについて、どちらが強く感じるか尋ねたところ、40℃減圧水蒸気蒸留の精油であるAの方が強いという回答が7割以上であった。また好みについても、Aの方がより好ましいという回答が多く寄せられた。この結果

は、成分分析結果の傾向と合致する。すなわち、40℃減圧水蒸気蒸留の精油は、比較的沸点が低く、スパイシー、柑橘様、果実様の香りをもつ成分が多く含まれるため、フレッシュ感、柑橘らしさが強く感じられたものと推測された。

今回の結果では、40℃減圧水蒸気蒸留の精油の方が好ましいという結果であったが、食品に添加して使用する場合、特にフレーバーティーなど加熱を伴う場合は、香気の気散などの影響が考えられるので、改めて調査する必要があると考えられた。

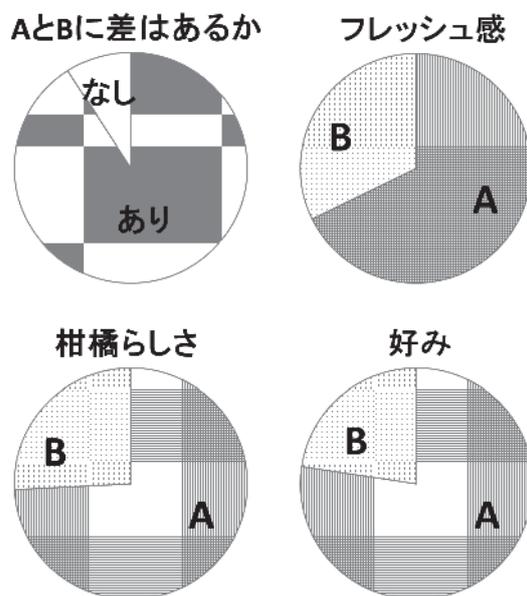


図2 精油のアンケート結果

(A:40℃減圧水蒸気蒸留, B:常圧水蒸気蒸留)

4 まとめ

ヘベス残渣精油を分析した結果、

- 1) ヘベス精油は、日向夏やユズと比べ、爽やかなグリーンの香りとフローラルな香りを合わせ持つ精油であると考えられた。
- 2) 減圧水蒸気蒸留を行うことにより、軽く、華やかで柑橘類らしい香りを強くした精油をすることができ、官能評価でも良好であった。

5 参考文献

- 1) 松浦靖, 十川隆博, 永山志穂, 日高照利, 有馬聡, 有菌裕朗, 宮崎県工業技術センター・宮崎県食品開発センター研究報告, **54**(2009)

MALDI-TOF MS を用いた県オリジナルの微生物データベースの構築

喜田 珠光*¹・高山 清子*¹・水谷 政美*¹
山本 英樹*¹・祝園 秀樹*¹・藤田 依里*¹

Constraction of Miyazaki prefecture original microbial database using MALDI-TOF MS

Tamami KIDA, Kiyoko TAKAYAMA, Masami MIZUTANI,
Hideki YAMAMOTO, Hideki IWAIZONO and Eri FUJITA

県内の微生物資源を有効活用するため、食品に使用できる微生物のデータベースを構築することを目指した。新規導入した MALDI-TOF MS を活用し、微生物を簡便、迅速に同定した。その結果、食品に活用可能な微生物が豊富に存在することが期待される発酵食品の他、自然界の木の実等 263 サンプルを収集し、酵母と乳酸菌を含む約 3,500 株の微生物を分離・保存した。さらに、発酵食品のサンプルに関しては、pH、アルコール分、塩分濃度を測定した。

キーワード：MALDI-TOF MS, 酵母, 乳酸菌, 発酵食品

1 はじめに

近年、消費者の健康志向は高まっており、食品に関しても、おいしさだけでなく機能性が求められるようになってきた。その中で、乳酸菌等の微生物を利用した発酵食品は非常に注目を集めている。また、地域の活性化や 6 次産業化が推し進められる中、各公設試や教育機関、民間企業による、独自の微生物を利用した地域ブランドの食品開発も盛んである。当県にも伝統的な発酵食品は数多く存在するが、これまで十分な調査がなされていなかったために、貴重な微生物資源が活用しきれていないのが現状である。そこで、県内の微生物資源を体系的に調査し、新規食品の開発に利用できる微生物のデータベースを構築することを目的として、本研究を行ったので報告する。

2 実験方法

2-1 試料採取、分析

微生物の分離源として、県内の食品メーカー、自治体等の協力のもと、各地を訪問し、計 31 社から

焼酎もろみや醤油もろみといった発酵食品や、自然界の木の実等を入手することができ、計 263 サンプルを収集した(表 1)。

採取した試料は冷蔵庫で保管し、pH(堀場製作所、pH メータ F-71)、アルコール分(簡易アルコール分析器 AL-2 型アルコメイト)、塩分濃度(モール法¹⁾)を測定した。

表 1 採取した試料の内訳

種類	試料数
焼酎もろみ	110
醤油もろみ	59
味噌	7
醸造用ぶどう	21
木の実、花	50
その他	16
計	263

2-2 微生物の分離・培養・保存

試料からの微生物の分離には、酵母は PDA 培地(Difco 社製)、乳酸菌は MRS 寒天培地(Difco 社製)を用いた。試料を 0.85% 食塩水で最大 10⁸ 倍まで段階希釈し、平板塗抹法で培養した。固体の試料は三

*1 応用微生物部

角フラスコにそれぞれ YPD 培地(グルコース 5%, 酵母エキス 0.2%, ペプトン 0.4%)と MRS broth を約 50 ml 入れて集積培養を行い, その培養液を塗抹した。

得られたコロニーについて, 酵母類は PDA 培地から YPD 培地へ, 乳酸菌類は MRS 寒天培地から MRS broth へ植菌し, 再び培養した。醤油もろみ等の高濃度の塩分を含む試料から分離した微生物には, 10%の食塩を添加した培地を用いた。耐塩性酵母に対しては食塩を添加した YPD 培地ではなく、醤油を使用した培地¹⁾を用意した。

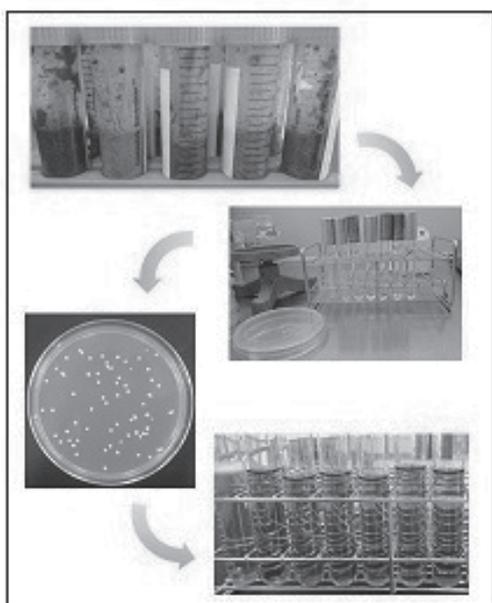


図1 分離・培養の流れ

培養後, 菌体が増殖したことを確認し, 長期保管用と MALDI-TOF MS 分析用に分けてどちらも -80°C で保存した。

長期保管用はキャップ付きチューブに 10%グリセリン溶液を満たし, 液中に菌体を浸したものを 1 株につき 5 本作製した。チューブはボックスに収納して冷凍庫に入れ, 保管場所を記録している(図 2)。

MALDI-TOF MS 分析用は前処理工程のエタノール添加まで行った。

2-3 MALDI-TOF MS による同定

MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometer) はイオン化させたタンパク質分子の飛行時間から質量を求める装置である。MALDI バ

イオタイパーでは微生物のリボソームタンパクを分析し, 属種を同定することができる。

前処理にはエタノール・ギ酸抽出法(Bruker 社 MALDI バイオタイパーコンパストレーニングテキスト)を用いた。エタノールを加えた後冷凍保存していたサンプルを常温で解凍し, その後の前処理を完了させて MALDI-TOF MS(図 3)で分析した。同定不可であった菌は, 冷凍ストックの菌株を用いて再度分析した。



図2 長期保存用のチューブとボックス



図3 MALDI-TOF MS 本体

3 結果および考察

3-1 pH, アルコール分, 塩分濃度測定

(1) 焼酎もろみ, 醤油もろみの pH を測定した結果を図 4, 5 に示す。一次もろみの pH は 3.3 ~ 3.8, 二次もろみは 3.6 ~ 4.6 となり。pH は一次もろみより二次もろみで高くなることが確認できた。

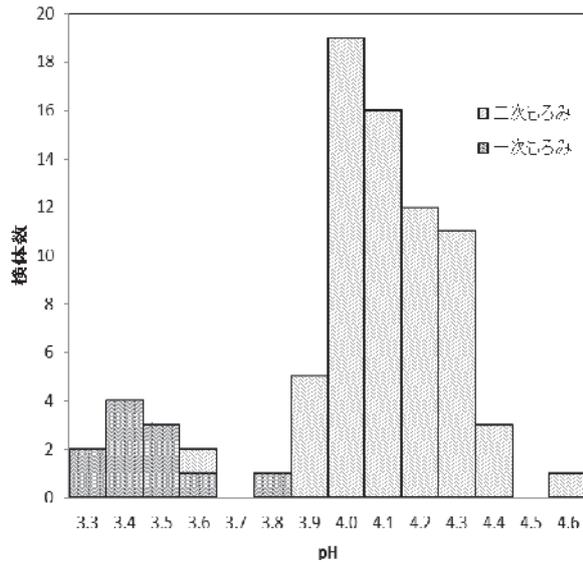


図4 焼酎もろみの pH の分布

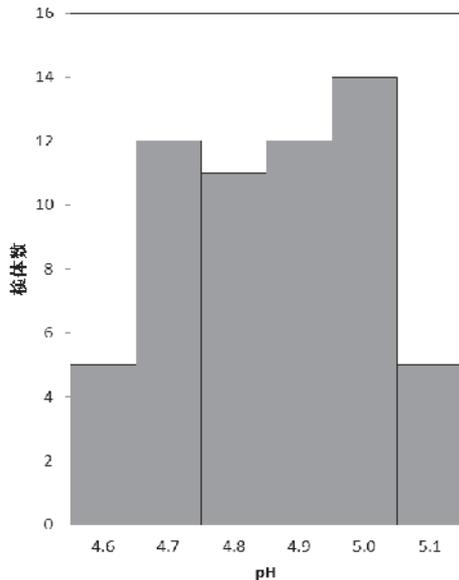


図5 醤油もろみの pH の分布

- (2) 焼酎もろみのアルコール分を測定したところ、仕込んだばかりのもろみを除き、多くのもろみで 13~17% 台であった。
- (3) 醤油もろみ、味噌の塩分濃度を測定した。味噌の塩分濃度は 10.4~12.3% とばらつきが小さかったのに対し、醤油もろみは 15.4~19.6% と大きくばらついていた。これは地域間の味の好みの差を反映していると考えられる。

3-2 微生物の分離・培養・保存

総計 3,641 株を分離し、3,544 株を保存した。3,641 株の内訳は、焼酎もろみ由来が 2,077 株、醤油もろ

み由来が 944 株、その他由来が 620 株である。菌体が十分に増殖せず、保存ができなかった株もあった。

3-3 属種の同定

図 6 に示すとおり、今回分析した 3,641 株中、2,563 株で属または種の同定ができた。2,563 株中酵母が 1,448 株、耐塩性酵母が 85 株、乳酸菌が 783 株、その他の真菌・細菌類が 247 株であった。

1,078 株は同定ができず、それらの菌株の由来を見てみると、820 株が醤油もろみから、258 株がそれ以外から分離したものであった。同定不可の原因は 2 つのパターンに分けられ、1 つは検体からスペクトルを取得できなかった場合、もう 1 つはスペクトルは取得できたがライブラリに適合する菌種がなかった場合である。醤油もろみ由来の株では前者の原因で同定できない株が多かった。これは前処理の段階で混入した培地中の塩の影響によるものだと考えられる。

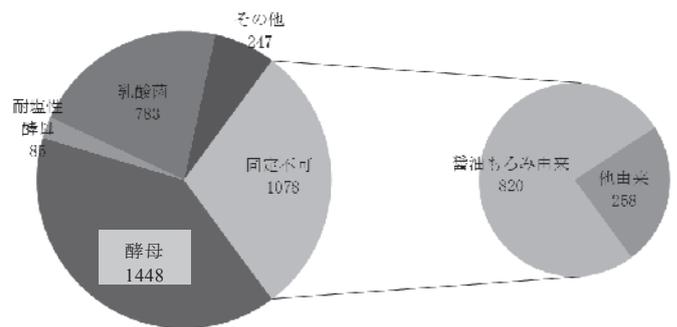


図6 3641 株の同定結果

酵母の大部分は *Saccharomyces cerevisiae* であった。乳酸菌は *Lactobacillus* 属、*Lactococcus* 属 *Leuconostoc* 属に分類される 20 種が検出され、表 2 にそれらの属種と各菌株数を示した。

表2 分離・同定した乳酸菌

菌種	株数
<i>Lactobacillus plantarum</i>	210
<i>Lactobacillus paracasei</i>	190
<i>Lactobacillus fermentum</i>	112
<i>Lactobacillus brevis</i>	108
<i>Lactobacillus satsumensis</i>	31
<i>Lactococcus lactis</i>	29
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	27
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	19
<i>Lactobacillus harbinensis</i>	16
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	10
<i>Lactobacillus perolens</i>	7
<i>Lactobacillus nagelii</i>	7
<i>Lactobacillus hilgardii</i>	5
<i>Lactobacillus buchneri</i>	4
<i>Lactobacillus coryniformis</i>	2
<i>Lactobacillus sakei</i>	2
<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	1
<i>Lactobacillus curvatus</i>	1
<i>Lactococcus garvieae</i>	1
<i>Lactobacillus pentosus</i>	1

4 まとめ

県内の発酵食品や自然界等、幅広い分野から収集した試料から 3,500 株以上の微生物を分離・保存することができた。新しく導入した MALDI-TOF MS を利用することで、1 年間で約 2,500 株の属または種を同定することができた。食品に活用できる可能性のある酵母、乳酸菌が多数見つかった。

5 参考文献

- 1) 全国味噌技術会:味噌技術ハンドブック付基準みそ分析法(1995)

キクイモを原料とした焼酎の製造

高山 清子*¹・山本 英樹*¹・祝園 秀樹*¹・藤田 依里*¹・喜田 珠光*¹
大浦 晋一*²・水谷 政美*¹

Producing *Shochu* made from “*Kikuimo*” (*Helianthus tuberosus*) as raw materials.

Kiyoko TAKAYAMA, Hideki YAMAMOTO, Hideki IWAIZONO, Eri FUJITA, Tamami KIDA,
Shinichi OURA and Masami MIZUTANI

キクイモを原料とした焼酎を開発するため、二次掛けにキクイモ、米、麦を用いた試験醸造を行った。二次掛けにキクイモのみを用いた焼酎のアルコール取得量は低かったが、麴歩合を増やし、汲水歩合を減らすことでアルコール取得量が改善した。キクイモ焼酎の香気成分分析においてはセスキテルペンの Bisabolene, Cadinene, Calamenene が検出された。官能評価においては、原料特性、甘い、旨味があるという評価が多かった。キクイモのみを二次掛けに使用することで、キクイモの特徴を有する焼酎を製造することができた。

キーワード：キクイモ，焼酎，セスキテルペン

1 はじめに

焼酎産業は本県の主要産業であり、県内第一の年間出荷金額 9 8 9 億円（平成 2 6 年工業統計調査）である。焼酎の原料には主に米、麦、甘藷、ソバが利用されているが、蒸留することで原料由来の香気成分が濃縮されることを期待し、本県特産のピーマン等特徴のある原料を用いた焼酎が造られている。一方、キクイモ (*Helianthus tuberosus*) はキク科ヒマワリ属の多年草であり、地中の塊茎を食する¹⁾。キクイモには水溶性食物繊維であるイヌリンが多く含まれ、フルクトース含有糖質が多いとされている²⁾。これまでに、伊藤恭五郎³⁾、伊藤今朝儀⁴⁾によりキクイモを使用した焼酎の製造方法について報告されているが、蒸留後の焼酎については不明である。そこで、本研究ではキクイモを原料とした焼酎の小仕込み試験後、大浦酒造（株）にてキクイモ焼酎の製造を行い、蒸留後の焼酎について香気成分分析及び官能評価を行ったので報告する。

2 実験方法

2-1 小仕込み試験における原料配合の検討

キクイモにはイヌリンが多く含まれるが、焼酎用酵母はイヌリンを資化できない⁵⁾。また、キクイモの炭水化物は可食部 100 g 当たり 14.7 g であり¹⁾、そのほとんどがイヌリンとされている²⁾。そこで、二次仕込み原料として、キクイモ以外に米及び麦を使用した焼酎の小仕込み試験を行った（表 1）。

表 1 小仕込み試験における仕込み配合

試験区	単位 (kg)			
	一次 米麴(白)	二次 麦	米	キクイモ
A	0.7	1	-	1.5
B	0.7	-	1	1.5
C	0.7	-	-	2.5

麴歩合 30%，汲水歩合 156%

製麴は原料米として精白米 3 kg を、種麴として *Aspergillus kawachii*（株）河内源一郎商店）を使用し、恒温恒湿器（エスペック（株）、PR-3KP）にて行った。恒温恒湿器の設定は、庫内温度 35℃、湿度 95%で 40 時間、庫内温度 30℃、湿度 95%で 4 時間とした。一次もろみには宮崎酵母（MK021）を初発酵母密度が 1.5×10^6 cell/mL となるように汲水

*1 応用微生物部
*2 大浦酒造株式会社

とともに米麴に添加し5日間発酵させた。二次もろみには表1に示す主原料と汲水を掛け、13日間発酵させた。発酵後の各熟成もろみを常圧蒸留してキクイモ焼酎を得た。

2-2 焼酎製造場規模のキクイモ焼酎の仕込み

小仕込み試験の官能評価から、二次掛けをキクイモのみとした試験区が最も原料の特徴が出ていると判断されたことから、大浦酒造(株)においては表2の条件でキクイモ焼酎の仕込みを行った(図1)。

表2 大浦酒造(株)における仕込み配合

	一次もろみ	二次もろみ	計
米麴(kg)	120	-	120
キクイモ(kg)	-	300	300
水(L)	144	320	464

麴歩合 40%, 汲水歩合 110%



図1 キクイモ焼酎の仕込み(大浦酒造(株))

米麴は種麴として焼酎用白麴 K 型菌(株)ピオックを使用し、常法で行った。一次もろみは米麴に宮崎酵母と汲水を加え、4日間かめに発酵させた。さらに、主原料のキクイモと汲水を掛けた二次もろみでは、一次もろみと同様にかめに9日間発酵させた。これらの熟成もろみを常圧蒸留してキクイモ焼酎を得た。

2-3 キクイモ焼酎の分析

蒸留後の焼酎は振動式密度計(京都電子工業(株), DA-155)にてアルコール分を求めた。熟成後は試験区 A, B, 大浦酒造(株)で製造した焼酎についてはアルコール分が 25%となるように、試験区 C についてはアルコール分が 20%となるように割水し、ろ過、瓶詰めを行った。割水後の焼酎は、国税庁所定

分析法⁹⁾により酸度をもとめた。また、大浦酒造(株)で製造したキクイモ焼酎の香気成分分析は、ガスクロマトグラフ質量分析計(株)島津製作所, GCMS-QP2010 Plus, AOC-5000 Auto Injector)を用いて、ヘッドスペース固相マイクロ抽出(SPME)法で行った。分析条件は表3のとおりとした。

2-4 キクイモ焼酎の官能評価

大浦酒造(株)で製造したキクイモ焼酎については7名で官能評価を行い、香り特性、香り指摘、味特性、味指摘の28項目について4点法(1:秀, 2:優, 3:良, 4:可)で評価した。

表3 GCMSの分析条件

(SPME)	
SPME ファイバー	60 μm Polyethylene Glycol
試料	3 mL / 5 mL バイアル
SPME 条件	バイアル温度 40°C, 抽出時間 30 分間 (アジテーション ON), ヘッドスペース法
(GC)	
注入口温度	230°C
カラム	DB-WAX 30 m, Diam 0.25 mm, Film 0.25 μm
オープン	50°C (5分) - 4°C/min - 230°C (5分)
インターフェース温度	230°C
(MS)	
イオン化モード	EI
イオン源温度	200°C
測定モード	SCAN

3 結果および考察

3-1 キクイモ焼酎の分析結果

小仕込み試験で得られた3種類のキクイモ焼酎および大浦酒造(株)で製造したキクイモ焼酎の蒸留後のアルコール分、原料1トン当たりの純アルコール収得量、割水後の酸度を表4に示した。

表4 キクイモ焼酎の分析結果

	アルコール 分 (%(v/v))	原料 t 当たり純アル コール収得量 (L/t)	割出後の 酸度
A	28.6	187	0.9
B	28.0	188	0.9
C	20.8	71	0.9
製造場	28.7	164	1.1

二次掛けにキクイモのみを用いた試験区Cのアルコール収得量は低かった。これは、キクイモの炭水化物のほとんどがイヌリンであり、酵母が資化できなかったためと考えられた。大浦酒造(株)にて製造したキクイモ焼酎は、小仕込み試験の結果を踏まえ、麴歩合を増やし、汲水歩合を減らすことでアルコール収得量が改善された。大浦酒造(株)で製造したキクイモ焼酎の香気成分分析結果を図2に示した。キクイモ焼酎ではセスキテルペンで木様香の Bisabolene (26.573 min), Cadinene (27.392 min), Calamenene (29.577 min) が検出された。これらの成分がキクイモ焼酎特有の香りを形成していると考えられた。

3-2 キクイモ焼酎の官能評価

大浦酒造(株)で製造したキクイモ焼酎を4点法で評価した結果、7人の平均は2.1点であった。香りでは原料特性(6人)、味では甘い(6人)、旨味がある(5人)という評価が多かった(図3)。その他、ショウガに似た香り、熟成するとよくなりそう、土臭さはないとの評価があった。キクイモのみを二次掛けの原料とすることで、キクイモの特徴を有する焼酎を製造することができた。

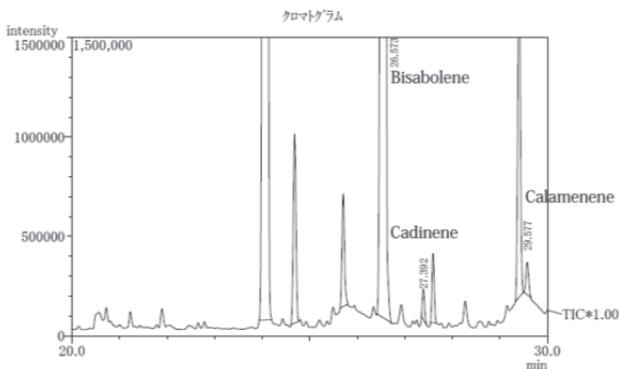


図2 キクイモ焼酎のGCMSクロマトグラム

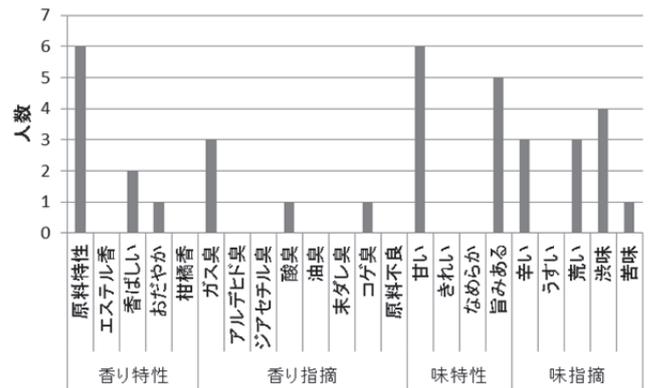


図3 キクイモ焼酎官能評価結果

4 まとめ

キクイモのみを二次掛けに使用した試験区のアルコール収得量は低かったが、麴歩合を増やし汲水歩合を減らすことでアルコール収得量が改善したキクイモ焼酎を製造することができた。キクイモ焼酎の香気成分分析の結果、セスキテルペンの Bisabolene, Cadinene, Calamenene が検出された。官能評価においては、原料特性、甘い、旨味があるという評価が多かった。本研究で得られた成果を基に、平成30年秋にキクイモ焼酎「あたらよ」として販売を予定している。

5 参考文献

- 1) 文部科学省日本食品標準成分表 2015年版(七訂)
- 2) 戸松 誠:秋田県総合食品研究センター報告, 18, 17-20 (2016)
- 3) 伊藤 恭五郎:日本醸造協会雑誌, 38, 54-42 (1943)
- 4) 伊藤今朝儀:特開 2007-282576 号公報
- 5) 宮崎県:特開 2010-200729 号公報
- 6) 注解編集委員会編:第四回改正国税庁所定分析法注解, 公益財団法人日本醸造協会, 40-41(2000)

新しい加工用米(み系 358)を用いた芋焼酎試験醸造と実用化 (第 2 報)

山本 英樹*¹・水谷 政美*¹・祝園 秀樹*¹・高山 清子*¹・藤田 依里*¹・喜田 珠光*¹

The Examination Brewing and Practical Use of Sweet Potato *Shochu* Using New Processing Rice "Mikei 358" (Part2)

Hideki YAMAMOTO, Masami MIZUTANI, Hideki IWAIZONO,
Kiyoko TAKAYAMA, Eri FUJITA and Tamami KIDA

加工用米み系 358 の焼酎麹用原料としての適性を把握するために、前回に引き続き 2 酒造場における芋焼酎の工場規模試験醸造、成分分析および官能評価を行った。み系 358 の製麹はほぼ順調であり、麹は総ハゼでハゼ込みも十分に良質であった。み系 358 の芋焼酎製造における一次および二次もろみの発酵経過も良好であった。芋焼酎の一般成分 (pH, 酸度, 紫外部吸収) も良好で、主要香気成分 (アルコール類, エステル類) および特徴香微量成分 (モノテルペンアルコール, β -ダマセノン) についても、み系 358 製焼酎は十分量含有していた。官能検査では、み系 358 製芋焼酎は「甘味がある」、「芳醇である」、「旨みがある」、「原料特性がある」等の特徴が見られ、対照の麹用米を使用した芋焼酎に比べて評価が高かった。

以上より、前回に引き続き新しい加工用米み系 358 は焼酎麹用米としての醸造適性が高いと推定された。現在、栽培結果を合わせて検討し、本格的な実用化を目指している。

キーワード：加工用米，麹，芋焼酎

1 はじめに

宮崎県には 40 余りの本格焼酎製造場があり、芋、麦、米、そば等の多彩な原料を用いた個性豊かな焼酎が消費者に広く受け入れられてきた。宮崎県の平成 26 年焼酎出荷金額は 989 億円で、焼酎産業は屈指の主要産業である。

本格焼酎の製造において、麹は焼酎の品質や生産量に大きく影響し、主要な原料である米の品質および数量の確保は酒造場にとって大変重要である。

平成 30 年度から国による米の生産調整、いわゆる減反が廃止されるのに備えて、県や関係団体は、新しい加工用米み系 358 の焼酎麹用米としての普及に取り組み米の生産拡大を図ってきた。み系 358 は、県総合農業試験場が育種した、普通期の収量の高い加工用米である。

前報^{1,2)}では、加工用米み系 358 について吸水試験、芋焼酎の小仕込み試験、工場規模試験醸造、成

分分析および官能評価を行い、焼酎麹用米として醸造適性を有する可能性を確認した。本報では、前回に引き続きみ系 358 を用いた芋焼酎の工場規模試験醸造を 2 酒造場で行い、焼酎麹用米としての醸造適性評価を行ったので報告する。

2 実験方法

2-1 供試米

加工用米み系 358 は、県内で栽培された新米を用いた。み系 358 を麹用米として使用し、柳田酒造合名会社および古澤醸造合名会社において芋焼酎の工場規模試験醸造を実施した。対照として夏の笑みおよび山田錦を使用した。

2-2 芋焼酎工場規模試験醸造

柳田酒造合名会社において、製麹には精白した新米 800 kg を用いた。浸漬は 70 分間、水切りは 90 分間行い、その後蒸しを行った。種麹は河内黒麹菌 (*Aspergillus luchuensis*) または河内白麹菌 (*Aspergillus kawachi*) を使用し、ドラム製麹機で

*1 応用微生物部

42時間かけて製麴を行った。一次もろみでは製造した麴を2つのタンクに分割して鹿児島2号酵母(K-2)を使用して約1週間発酵させた。さらに、主原料のコガネセングン2,000kgずつを蒸して、それぞれのタンクに加えて二次もろみとし約8日間発酵させた。熟成二次もろみを常圧蒸留し芋焼酎を得た。

また、古澤醸造合名会社において、製麴には精白した米500kgを用いた。浸漬は20分間、水切りは60分間行い、その後蒸しを行った。種麴は河内白麹菌(*Aspergillus kawachii*)を使用し、ドラム製麴機および三角棚で40時間かけて製麴を行った。一次もろみでは宮崎酵母(MK021)を使用して発酵させた。さらに、主原料のコガネセングン2,500kgを蒸して、熟成一次もろみに加えて二次もろみとし発酵させた。熟成二次もろみを常圧蒸留し芋焼酎を得た。

2-3 芋焼酎の成分分析

芋焼酎25度のpH、酸度、紫外外部吸収、アルコール分の分析は、国税庁所定分析法³⁾に従った。芋焼酎熟成二次もろみのアルコール分は、もろみを3,000rpmで遠心分離した上清について、HEWLETT PACKARD製6890 SERIES II ガスクロマトグラフ(J&W DB-WAX; I.D. 0.53 mm × 30 m, Film 1 μm, 50→170°C (4°C/min), FID 検出器)を用いて測定した。芋焼酎の一般香気成分の分析はガスクロマトグラフ(島津製作所製GC2010 Plus)を用いてヘッドスペース法にて、モノテルペンアルコールおよびβ-ダマセノンについてはガスクロマトグラフ質量分析計(島津製作所製GCMS-QP2010 Plus)を用いて行った。焼酎のモノテルペンアルコールおよびβ-ダマセノン測定試料の調製は、ヘッドスペース固相マイクロ抽出(Solid Phase Micro Extraction: SPME)法^{4,7)}で行った。アルコール分25%(v/v)の焼酎5mLおよび内部標準溶液(1-ペンタノール250mg/L)0.1mLを20mL容ガラスバイアルに入れて密栓し、島津製作所製AOC-5000オートインジェクターを用いて40°C、500rpmで攪拌しながら5分加温した後、SPMEファイバー(SUPELCO 85 μm ポリアクリレート)を露出して30分間攪拌しながら抽出を行った。脱離はSPMEファイバーを分析装置の注入口内で5分間露出して行った。

2-4 芋焼酎の官能評価

工場規模試験醸造で製造した芋焼酎25%(v/v)について焼酎官能評価経験者5名をパネリストとして5点法(1:秀, 2:優, 3:良, 4:可, 5:不可)により官能評価を行い、酒質を評価した。

3 結果および考察

3-1 芋焼酎工場規模試験醸造

柳田酒造合名会社において、県産加工用米み系358を麴原料用米として使用し、製麴を行った。表1に製麴に関する製造者の所見を示した。蒸し上がりで固まりが目立ったが、浸漬や水切り条件を調整することにより十分改善できると考えられた。全般的に、み系358は夏の笑みに比べて製麴がし易かった。図1にみ系358製、対照の夏の笑み製および山田錦製米麴の外観を示した。これらの麴の酸度は、み系358製(白麴)が10.0、夏の笑み製(黒麴)①、②がそれぞれ10.0および10.3、山田錦製(白麴)①、②がそれぞれ7.8および9.0であった。み系358の麴は総ハゼになっておりハゼ込みも十分で、出麴酸度も高く、良質であった。

表2に芋焼酎の仕込み歩合を示した。み系358夏の笑みおよび山田錦のいずれも、一次もろみ、二次もろみの発酵および蒸留は首尾よく行われた。芋焼酎製造の発酵管理に関する値を表3に示した。麴米の種類によるアルコール発酵および蒸留に差異は認められなかった。

表1 製麴に関する製造者の所見

項目	所見
蒸しの状況	粘りは少ない やや硬い 夏の笑みに比べると固まりは少ないが、固まりは目立つ 手につきにくい
製麴のし易さ	盛りの時に固まりが多いが、夏の笑みに比べると崩しやすい
出麴の状況	麴が比較的硬い ハゼ廻り良好 ハゼ込みはやや良
総合評価	夏の笑みに比べると製麴し易い



み系358の米麴(白)



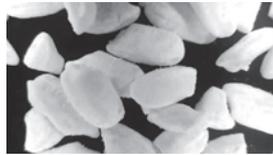
夏の笑みの米麴(黒)①



夏の笑みの米麴(黒)②



山田錦の米麴(白)①



山田錦の米麴(白)②

図1 米麴の外観

表2 芋焼酎の仕込み歩合

原料	一次	二次	計
麴米(kg)	400	—	400
コガネセンガン(kg)	—	2,000	2,000
汲水(L)	480	1,080	1,560

麴歩合20%、汲水歩合65%.

表3 芋焼酎の発酵管理に関する値

	み系358 製(白麴)	夏の笑み 製(黒麴) ①	夏の笑み 製(黒麴) ②	山田錦 製(白麴)
熟成二次もろみ				
アルコール分 (%)	12.4	12.2	12.8	12.8
焼酎原酒				
アルコール分 (%)	35.3	36.6	36.6	35.7
純アルコール 収得量(L/t)	186	171	186	189
蒸留歩合(%)	95.2	95.0	95.3	95.0

また、古澤醸造合名会社において、県産加工用米み系358を麴原料用米として使用し、製麴を行った。図2にみ系358製米麴の外観を示した。麴の酸度は3.3であり総ハゼで、ハゼ込みも十分であった。



図2 み系358の米麴(白)の外観

表4に芋焼酎の仕込み歩合を示した。一次もろみ、二次もろみの発酵および蒸留は順調であった。芋焼酎製造の発酵管理に関する値を表5に示した。

表4 芋焼酎の仕込み歩合

原料	一次	二次	計
麴米(kg)	500	—	500
コガネセンガン(kg)	—	2,500	2,500
汲水(L)	600	1,350	1,950

麴歩合20%、汲水歩合65%.

表5 芋焼酎の発酵管理に関する値

熟成二次もろみアルコール分(%)	13.5
焼酎原酒アルコール分(%)	39.3
純アルコール収得量(L/t)	184
蒸留歩合(%)	94.0

表6 芋焼酎25度の一般成分

	pH	焼酎酸度	紫外部 吸収
み系358製(白麴)	4.4	2.5	445
夏の笑み製(黒麴)①	4.5	2.1	596
夏の笑み製(黒麴)②	4.6	1.6	423
山田錦製(白麴)	4.4	2.5	381

3-2 芋焼酎の成分分析

表6に柳田酒造合名会社の芋焼酎25度の一般成分を示した。いずれも麴米の種類による大きな

差異は認められず、もろみの発酵および性状について問題はないと推察された。

表7 芋焼酎25度の主要な香気成分濃度および高級アルコール比

	(mg/L)			
	み系358製(白麴)	夏の笑み製(黒麴) ①	夏の笑み製(黒麴) ②	山田錦製(白麴)
酢酸エチル	89	84	54	77
ジアセチル	0.3	0.2	0.3	0.2
n-プロピルアルコール	101	96	109	97
i-ブチルアルコール	141	138	153	140
酢酸i-アミル	2.8	2.2	1.9	2.4
i-アミルアルコール	334	326	329	286
カプロン酸エチル	0.3	0.2	0.2	0.3
カプリル酸エチル	1.6	1.4	1.1	1.6
カプリン酸エチル	2.8	3.0	1.9	2.7
酢酸β-フェネチル	0.7	0.8	0.7	2.8
β-フェネチルアルコール	67	73	72	72
A/P	3.3	3.4	3.0	3.0
A/B	2.4	2.4	2.2	2.1
B/P	1.4	1.4	1.4	1.4
A/(P+B)	1.4	1.4	1.3	1.2

注) P: n-プロピルアルコール, B: i-ブチルアルコール, A: i-アミルアルコール

表8 芋焼酎25度のモノテルペンアルコールおよびβ-ダマセノン濃度

	(μg/L)			
	み系358製(白麴)	夏の笑み製(黒麴) ①	夏の笑み製(黒麴) ②	山田錦製(白麴)
リナロール	53	62	57	59
α-テルピネオール	77	71	65	71
シトロネロール	42	33	43	48
ネロール	32	31	18	42
ゲラニオール	43	42	35	45
β-ダマセノン	23	24	16	27

表7に芋焼酎25度に含まれる主要香気成分のアルコール類およびエステル類の濃度を示した。それぞれの成分について大きな違いは見られず、み系358製芋焼酎は主要な香気成分を十分含有することが分かった。表8に芋焼酎25度のモノテルペンアルコールおよびβ-ダマセノン濃度を示した。モノテルペンアルコールについて、み系358を用いた芋焼酎は対照と同等に十分に含有することが分かった。

表9 芋焼酎25度の一般成分

	pH	焼酎酸度	紫外部 吸収
み系358製(白麹)	5.1	0.5	644

表10 芋焼酎25度の主要な香気成分濃度
および高級アルコール比

(mg/L)	
み系358製(白麹)	
酢酸エチル	47
ジアセチル	0.5
n-プロピルアルコール	93
i-ブチルアルコール	238
酢酸i-アミル	4.2
i-アミルアルコール	509
カブロン酸エチル	0.2
カプリル酸エチル	1.6
カプリン酸エチル	3.2
酢酸β-フェネチル	2.1
β-フェネチルアルコール	77
A/P	5.4
A/B	2.1
B/P	2.5
A/(P+B)	1.5

注) P: n-プロピルアルコール, B: i-ブチルアルコール,

A: i-アミルアルコール

表9に古澤醸造合名会社の芋焼酎25度の一般成分を示した。pH, 焼酎酸度および紫外部吸収ともに通常の値であり、もろみの発酵および性状について問題はないと推察された。

表10に芋焼酎25度に含まれる主要香気成分のアルコール類およびエステル類の濃度を示した。み系358製芋焼酎は主要な香気成分を十分含有することが分かった。表11に芋焼酎25度のモノテルペンアルコールおよびβ-ダマセノン濃度を示した。これらについても、み系358を用いた芋焼酎は十分に含有することが分かった。

表11 芋焼酎25度のモノテルペンアルコールおよびβ-ダマセノン濃度

(μg/L)	
み系358製(白麹)	
リナロール	88
α-テルピネオール	66
シトロネロール	120
ネロール	85
ゲラニオール	86
β-ダマセノン	22

モノテルペンアルコールは芋焼酎の特徴香成分であると報告されている。甘藷中には糖が結合したモノテルペン配糖体が存在し、もろみ中で麴由来のβ-グルコシダーゼで加水分解され、ゲラニオールとネロールが遊離する。一部は、蒸留工程の熱ともろみ中の酸でリナロールやα-テルピネオールに変換され、また、酵母によりシトロネロールに変換される^{8,9)}。また、β-ダマセノンは芋焼酎に含まれる温かみのある甘い香りの特徴香成分であり、芋焼酎の風味に寄与する¹⁰⁾。

もろみの発酵が良好であったことと、焼酎に十分な香気成分が含有されていたことから、み系358を用いた場合も麴菌の酵素生産性については問題ないと推察された。

3-3 芋焼酎の官能評価

表12に柳田酒造合名会社の芋焼酎25度の官能検査結果を示した。み系358製芋焼酎の平均点は1.8であり、対照の3.8、2.0および2.8と比較して評価が高かった。また、「甘味がある」、「芳醇である」、「旨みがある」、「おだやか」等の

良好なコメントが得られ、焼酎の品質が高いことが分かった。

表13に古澤醸造合名会社の芋焼酎25度の官能検査結果を示した。み系358製芋焼酎の平均点は2.0であり、「甘味がある」、「原料特性がある」、「香ばしい」等の良好なコメントが得られ、焼酎の品質は高かった。

表12 芋焼酎25度の官能検査結果

※5点法(1:秀, 2:優, 3:良, 4:可, 5:不可)

製品	平均	コメント
み系358製(白麴)	1.8	甘味(4)、芳醇(2)、旨味(2)、おだやか(2)、原料特性、まるみ、香ばしい、エステル香、苦味、渋味、辛味、漬物臭
夏の笑み製(黒麴) ①	3.8	甘味(2)、旨味(2)、芳醇、辛味(3)、苦味(3)、油臭(2)、ガス臭、コゲ臭、酸臭、未だれ臭、漬物臭
夏の笑み製(黒麴) ②	2.0	甘味(4)、原料特性(3)、旨味(2)、芳醇、香ばしい、すっきり、キレあり、エステル香、辛味、苦味、渋味、酸臭
山田錦(白麴)	2.8	甘味(4)、原料特性(2)、旨味(2)、芳醇、苦味(2)、渋味(2)、辛味、酸臭、ガス臭

※ 5名の焼酎官能評価経験者で検査を行った。

表13 芋焼酎25度の官能検査結果

※5点法(1:秀, 2:優, 3:良, 4:可, 5:不可)

製品	平均	コメント
み系358製(白麴)	2.0	甘味(4)、原料特性(4)、香ばしい(2)、芳醇、旨味、まるみ、きれい、苦味、渋味、ガス臭、うすい

※ 5名の焼酎官能評価経験者で検査を行った。

4 まとめ

加工用米み系358の焼酎麴用原料としての適性を把握するために、芋焼酎の工場規模試験醸造を行った。

(1) み系358の製麴はほぼ順調であった。

み系358を用いた芋焼酎の熟成二次もろみアルコール分および純アルコール取得量は対照と大きな差異が無く良好であった。

(2) み系358製の芋焼酎は、一般成分、主要香気成分および特徴香微量成分を十分に含有し、対照と比較して顕著な差は認められなかった。

(3) 官能検査において、み系358製芋焼酎は「甘味がある」、「芳醇である」、「旨みがある」、「おだやか」等の特徴が認められ、対照と比較して同等以上の高い評価を得られた。

以上より、新しい加工用米み系358は焼酎麴用米としての醸造適性が高いことが分かった。今後、栽培結果等を合わせて検討し、本格的な実用化を目指す。

5 参考文献

1) 山本英樹, 水谷政美, 山田和史, 祝園秀樹, 高

- 山清子：宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告・平成26年度<59号>，53-58 (2014)
- 2) 山本英樹，水谷政美，山田和史，祝園秀樹，高山清子：宮崎県工業技術センター・食品開発センター研究報告・平成27年度<60号>，51-55 (2015)
- 3) 注解編集委員会編：第四回改正国税庁所定分析法注解(公益財団法人日本醸造協会，東京)，34-49 (2000)
- 4) 宇都宮仁：醸協，**94-3**，252-257 (1999)
- 5) 宇都宮仁，木田 信，牧 則光，磯谷敦子，岩田博，西谷尚道：醸協，**101-6**，446-457 (2006)
- 6) 福田 央，小林 健，坂本和俊，水谷 治，金井宗良，平松順一：酒類総合研究所報告，**183**，16-25 (2011)
- 7) 下田満哉：ぶんせき，**No.2**，75-79 (2002)
- 8) 太田剛雄：醸協，**86-4**，250-254 (1991)
- 9) 高峯和則，吉崎由美子，島田翔吾，高屋総一郎，玉置尚徳，伊藤 清，鮫島吉廣：醸協，**106-1**，50-57 (2011)
- 10) 神渡巧，瀬戸口眞治，上田次郎，瀬戸口智子，緒方新一郎：醸協，**101-6**，437-445 (2006)

6 おわりに

本研究における芋焼酎の工場規模試験醸造は，柳田酒造合名会社および古澤醸造合名会社の協力により行われた。また，本試験醸造は，宮崎県加工用米等生産・利用拡大推進協議会の支援の下，企画，実施した。



平成28年度・第61号

宮崎県工業技術センター
宮崎県食品開発センター
研究報告

平成30年2月28日発行

宮崎県工業技術センター／〒880-0303

宮崎県宮崎市佐土原町東上那珂16500-2

TEL 0985-74-4311

FAX 0985-74-4488

宮崎県食品開発センター／〒880-0303

宮崎県宮崎市佐土原町東上那珂16500-2

TEL 0985-74-2060

FAX 0985-74-4488